BAND 25, HEFT 2 DEZEMBER 1955

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 22 Abbildungen

1955

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 25, Heft 2, *S. 113—224, Berlin 1955*

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE 22 DEC 1955

INHALT

Abhandlungen

BARTELS, W., Untersuchungen über die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch Extrakte und Sekrete von höheren Pflanzen und einigen Mikroorganismen. Ein Beitrag zur Frage der Kompostierung tabakmosaikvirushaltigen Pflanzenmaterials. (Fortsetzung und Schluß) 113

CHRISTIANSEN-WENIGER, geb. KOTTE, EVA, Versuche zur stoffwechselphysiologischen Beeinflussung der Reaktion der Kartoffelknolle auf *Phytophthora infestans* de By. 153

TURIAN, G., Recherches sur l'action de l'acide borique sur la fructification des *Sordaria* 181

MÜLLER, E. und MENON, R., Über *Venturia rosae* de Not. und die Nomenklatur der Gattung *Venturia* de Not. Mit 2 Abb. 190

VOSS, TH, Untersuchungen über Frostschäden der Kartoffelknolle I. Mit 20 Abb. .. 196

Besprechungen 223

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 21,60 DM Einzelpreis 23,80 DM

Aus dem Institut für Phytopathologie und Pflanzenschutz
der Universität Rostock
Direktor: Prof. Dr. E. Reinmuth

Untersuchungen über die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch Extrakte und Sekrete von höheren Pflanzen und einigen Mikroorganismen

Ein Beitrag zur Frage der Kompostierung tabakmosaikvirushaltigen Pflanzenmaterials

Von

W. Bartels

(Fortsetzung und Schluß aus Phytopathologische Zeitschrift Band 25, Heft 1 Seite 72—98)

II. Beeinflussung des TMV durch Extrakte von grünen Blättern und vergilbendem Laub

1. Die inaktivierende Wirksamkeit von Extrakten bei Mischung von Extrakten und TMV-haltigem Kochsalzextrakt

a) Methodik: Es wurden grüne Blätter und vergilbendes Laub gesammelt und bei Raumtemperatur langsam getrocknet. Die Auswahl des Materials erfolgte in der Regel unter dem Gesichtspunkt, daß die Blätter bzw. das Laub in größerem Maße für eine Kompostierung zur Verfügung stehen.

In Deckelschalen von 6 cm Höhe und 10 cm Durchmesser wurden jeweils 20 g des lufttrockenen Pflanzenmaterials mit 40 ccm Wasser übergossen und über Nacht stehengelassen. Am nächsten Morgen wurde das feuchte Material ausgequetscht, und die dunkelbraun gefärbten, z. T. recht dickflüssigen Extrakte wurden in Reagenzgläsern aufgefangen. Es wurden dann TMV-haltiger Kochsalzextrakt und Blatt- bzw. Laubextrakt in zwei verschiedenen Mischungsverhältnissen zusammengegeben (Näheres siehe Kopf der Tabelle 5).

Diese Mischungen blieben ebenfalls in der Regel über Nacht bei Raumtemperatur stehen und wurden am nächsten Tage auf der rechten Seite von 8 oder 12 Testtabakblättern abgerieben.

Analoge Kontrollen, in denen an die Stelle von Blatt- bzw. Laubextrakten Aqua dest. trat, wurden auf der linken Seite der Testtabakblätter verwendet. Die Auswertung der Tests erfolgte in der für die Halbblattmethode üblichen Weise.

b) Besprechung der Einzelergebnisse der Serien A und B: In der Tabelle 5 wurden die Blatt- und Laubarten sowie die beiden Wurzelarten nach ihrer inaktivierenden Wirksamkeit in der Serie A (stär-

Tabelle 5 Inaktivierung des TMV durch Extrakte von grünen Blättern und vergilbendem Laub (unter Verwendung von TMV-haltigem Kochsalzextrakt als Virusquelle)

Blatt bzw. Laubextrakte von:	pH-Wert der Laubextrakte	Blattzahl	A (1 TMV Kochsalzextrakt + 3 Extrakt)		B (1 TMV Kochsalzextrakt + 1 Extrakt + 2 Aqua dest.)	
			Läsionen links : rechts	Inaktivierung %	Läsionen links : rechts	Inaktivierung %
Johannisbeerblätter	4,6	12	20/0	100	48/3	93,8
Petersilienblätter	4,9	12	43/0	100	65/5	92,3
Lindenlaub	6,3	12	51/1	98,0	250/20	92,0
Kreuzkrautblätter		12	72/2	97,2	113/37	67,3
Serradellablätter		12	58/2	96,6	61/3	95,1
Beifußblätter	6,6	12	53/2	96,2	19/2	89,5
Weißer Gänsefuß, Blätter	6,1	12	404/16	96,0	53/1	98,1
Zuckerrübenblätter	5,3	12	48/2	95,8	79/4	94,9
Tomatenblätter	5,8	12	120/6	95,0	88/22	75,0
Sellerieblätter		12	245/13	94,7	183/60	67,2
Rotkohlblätter	5,3	12	65/5	92,3	63/24	61,9
Johannisbeerlaub, krank (Befall durch *Pseudopeziza ribis*, außerdem Blattrandkrankheit)	6,2	12	43/5	88,4	59/26	55,9
Apfelblätter mit *Fusicladium*befall	5,1	12	34/4	88,2	72/12	83,3
Brombeerblätter	4,8	12	50/6	88,0	93/67	28,0
Weißkohlblätter	4,9	12	53/7	86,8	56/43	23,2
Rosenkohlblätter	5,1	12	97/14	85,6	186/49	73,7
Eschenlaub	6,2	12	20/3	85,0	61/7	88,5
Eschenblätter		12	134/22	83,6	107/32	70,1
Ackerbohnenblätter	4,5	12	30/5	83,3	27/8	70,4
Futterrübenblätter		12	93/16	82,8	90/12	86,7
Pfirsichblätter	5,2	12	58/10	82,8	44/19	56,8
Ulmenblätter	5,0	12	163/29	82,2	631/55	91,3
Spitzahornlaub	4,9	12	33/6	81,8	12/1	91,7
Kirschblätter (Schneiders späte Knorpelkirsche)	5,4	20	70/13	81,4	68/32	52,9
Weißer Gänsefuß, Wurzeln	5,0	12	149/28	81,2	8/8	0
Kirschenhexenbesenblätter	4,8	8	37/7	81,1	19/6	68,4
Birkenblätter		12	119/25	79,0	197/83	57,9
Farnlaub	5,4	12	150/32	78,7	126/61	51,6
Asternblätter	6,0	12	9/2	77,8	25/1	96,0
Apfelblätter (Schöner v. Nordhausen)	4,8	12	79/18	77,2	72/31	56,9
Topinamburblätter	7,1	12	48/11	77,1	139/28	79,9

Kohlrübenblätter	4,7	12	13/3	76,9	20/3	85,0
Buchenlaub	4,7	12	63/17	73,0	76/48	36,8
Pflaumenblätter	4,4	12	33/9	72,7	60/13	78,3
Kirschblätter (Sauerkirschensorte Nr. 5)		8	21/6	71,4	17/10	41,2
Nelkenblätter		12	91/28	69,2	135/46	65,9
Kirschblätter (Sauerkirschensorte Nr. 3)		8	99/32	67,7	53/26	50,9
Majoranblätter		12	189/64	66,1	92/46	50,0
Kiefernnadeln	5,1	12	93/32	65,6	83/30	63,9
Birnenblätter	5,2	12	95/36	62,1	62/32	48,4
Blumenkohlwurzeln	4,5	12	129/49	62,0	177/84	52,5
Kiefernstreu (= „Laub“)	4,1	12	37/15	59,5	79/37	53,2
Kirschblätter (Sauerkirschensorte Nr. 2)		8	27/11	59,3	25/6	76,0
Purpurweidenblätter I		12	79/34	57,0	48/53	+ 10,4
Farnblätter	5,2	12	127/59	53,5	154/95	38,3
Ulbrichweidenblätter		12	142/72	49,3	72/46	36,1
Thujablätter		12	69/35	49,3	139/96	30,9
Spanische Glaskirschenblätter		8	69/35	49,3	44/23	47,7
Korbweidenblätter		12	57/29	49,1	51/36	29,4
Ulmenblätter, krank (frühzeitig gewelkt durch Verseuchung der Bäume mit *Graphium ulmi*)	5,4	12	29/16	44,8	54/13	75,9
Thujalaub	4,7	12	139/78	43,9	97/41	57,7
Kirschblätter (Hedelfinger)		8	24/14	41,7	21/23	+ 9,5
Porreeblätter		12	98/61	37,8	323/120	62,8
Kirschblätter (Sauerkirschensorte Nr. 4)		8	24/15	37,5	12/7	41,7
Buchenblätter	5,3	12	46/29	37,0	93/12	87,1
Kirschblätter (Schattenmorelle)		8	19/12	36,8	36/12	66,7
Walnußblätter	5,8	12	72/50	30,6	32/16	50,0
Hanfweidenblätter		12	64/45	29,7	69/21	69,6
Eichenlaub	4,6	12	31/22	29,0	40/31	22,5
Kirschblätter (Kassins Frühe)		8	23/17	26,1	44/23	47,7
Zierkirschenblätter		8	18/14	22,2	26/12	53,8
Kirschblätter (Voigtländer Wurzelechte)		8	23/19	17,4	42/29	31,0
Gewöhnliche Weidenblätter		12	35/30	14,3	47/21	55,3
Kirschblätter (Unterlage Ostheimer Weichsel)		8	25/22	12,0	22/15	31,8
Fichtennadeln	5,1	12	84/84	0	104/34	67,3
Eichenblätter	5,3	12	69/83	+ 20,3	91/13	85,7
Purpurweidenblätter		12	55/71	+ 29,1	241/277	+ 14,9

kere Extraktkonzentration) geordnet. Die Ergebnisse sind so eindeutig, daß umfangreiche Erklärungen überflüssig sind. Es ergibt sich daraus, daß von 67 geprüften Extrakten in der stärkeren Konzentration 26 eine Inaktivierung von 100 bis 80 % hervorrufen. 19 inaktivieren das TMV zu 80 bis 50 %. 16 Extrakte wirken unter 50 % inaktivierend, vier liegen innerhalb der Abweichung von ± 20 % von der Kontrolle, während zwei eine geringe Stimulierung zeigen. Eine völlige Inaktivierung des TMV bedingten Johannisbeerblätter- und Petersilienblätterextrakte.

Die bei einem Teil der Extrakte gemessenen pH-Werte bewegen sich mit Ausnahme des Extrakts von Topinamburblättern (pH 7,1) im sauren Bereich. Den niedrigsten pH-Wert hat Kiefernstreu (= Laub) mit 4,1.

Eine wesentliche direkte Beeinflussung des TMV durch die pH-Werte der Extrakte kann also nicht stattfinden, da ja, wie schon erwähnt, das TMV im Bereich zwischen pH 3 und pH 8 eine wesentliche Inaktivierung nicht erleidet. In der B-Serie (schwächere Extraktkonzentration) riefen mit vier Ausnahmen, die innerhalb der ± 20 %-Abweichung liegen, alle geprüften Extrakte eine eindeutige Inaktivierung hervor.

Auffallend ist noch in beiden Serien, daß verschiedene Sorten derselben Pflanzenart verschiedene Inaktivierungswerte bedingen, was besonders bei den Kirschen der Fall ist.

Drei der im vorliegenden Versuch geprüften Pflanzenarten wurden von WINTER und WILLEKE (1952) in Mazeratform gegenüber Bakterien ausgetestet. In der nachfolgenden Übersicht werden die Ergebnisse der Inaktivierung des TMV und der Hemmung bzw. Förderung des Bakterienwachstums nach WINTER und WILLEKE gegenübergestellt.

	Inaktivierung des TMV in Kochsalzextrakt %		Hemmung (in mm) oder Förderung (schwach +, stark +++) von		
	A	B	*Bacillus subtilis*	*Escherichia coli*	*Micrococcus pyogenes* var. *aureus*
Johannisbeerart-Blätter	100 %	93,8 %	++	++	5
vergilbendes Laub			0	0	0
Sellerie-Blätter	94,7 %	67,2 %	+	++	2
vergilbendes Laub			4	3	1
Ahornart-Blätter			1	1	6
vergilbendes Laub	81,8 %	91,7 %	+	+	0

Die Übersicht zeigt, daß ein Zusammenhang zwischen inaktivierender Wirksamkeit gegenüber dem TMV und der Hemmung bzw. Förderung der getesteten Mikroorganismen in den vorliegenden Fällen nicht besteht.

c) Der Einfluß der Extraktkonzentration auf die Inaktivierung: Der Vergleich der Inaktivierungswerte der B-Serie mit denen der A-Serie zeigt die deutliche Tendenz, daß bei schwächerer Extraktkonzentration eine geringere Inaktivierung des TMV erfolgt. Das zeigt sich besonders deutlich in der Gruppe der 45 Extrakte, die in der Serie A

(stärkere Extraktkonzentration) eine Inaktivierung des TMV von 100 bis 50 % hervorrufen. In dieser Gruppe zeigen nämlich nur zehn Extrakte in der Serie B (schwächere Extraktkonzentration) eine stärkere Inaktivierung, die aber nur in zwei Fällen größer als 10 % ist, nämlich bei den Extrakten von:

Asternblättern,
Sauerkirschenblättern Sorte Nr. 2.

Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß die Läsionszahlen in diesen Fällen recht niedrig liegen.

Unter den übrigen 22 Extrakten, die in der Serie A eine Inaktivierung des TMV unter 50 % hervorrufen, zeigen jedoch 15 in der Serie B eine stärkere Inaktivierung des TMV als in der Serie A. Insbesondere die am Schluß der Tabelle aufgeführten Extrakte weisen durchweg in der B-Serie höhere Inaktivierungswerte als in der A-Serie auf.

Es könnte das, wie schon im Kapitel über Mikroorganismenfiltrate erwähnt (Kap. C I—3d), evtl. auf die Bildung von anomal langen Molekülaggregaten durch starken Extraktzusatz (Serie A) zurückzuführen sein und auf die Tatsache, daß zur Inaktivierung einer geringeren Virusdosis größere Hemmstoffmengen notwendig sind als zur Inaktivierung einer größeren Virusdosis.

Die Menge der infektiösen Teilchen würde auf Grund der Aggregation abnehmen und der zur Verfügung stehende Extrakt für eine starke Inaktivierung dieser geringen TMV-Menge nicht mehr ausreichen.

Demgegenüber könnte man annehmen, daß eine Aggregation zu langen TMV-Teilchen bei schwächerer Extraktkonzentration (Serie B) nicht stattfindet, womit eine große Menge infektiöser Teilchen zur Verfügung steht, zu deren Inaktivierung eine relativ geringe Extraktmenge ausreicht.

d) Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren:

Die meisten der im Versuch geprüften Pflanzenarten wurden von anderen Autoren bisher nicht untersucht. Ein Vergleich der erhaltenen Inaktivierungswerte mit den Ergebnissen anderer Autoren ist deshalb nur in acht Fällen möglich, wobei dieser Vergleich aber nur sehr vorsichtig durchgeführt werden kann, da die Extraktkonzentrationen der Autoren nicht die gleichen sind wie im eigenen Versuch. Außerdem können oftmals auch nur Vergleiche mit der gleichen Gattung angeführt werden, die noch dazu in einigen Fällen mit anderen Viren als dem TMV durchgeführt wurden.

Mit Extrakten von Jakobs-Kreuzkraut (*Senecio jacobaea*) erzielte Manil (1949) keine deutliche oder keine Inaktivierung des TMV, während im eigenen Versuch eine andere Kreuzkrautart, nämlich das gewöhnliche Kreuzkraut (*Senecio vulgaris*), eine Inaktivierung des TMV von 97,2 % (Serie A) bzw. 67,3 % (Serie B) hervorrief.

Extrakte vom weißen Gänsefuß bezeichnet Manil als stark inaktivierend gegenüber dem TMV, dem Tabaknekrosevirus und dem Tabak-Ringflecken-

mosaik-Virus. Im eigenen Versuch ergab sich bei Gänsefußblattextrakten eine Inaktivierung des TMV von 96,0 % (A) bzw. 98,1 % (B).

Extrakte von Zuckerrübenblättern inaktivieren nach KUNTZ und WALKER (1947) das Wasserrübenmosaikvirus vollständig oder fast vollständig, in den eigenen Untersuchungen wurde das TMV 95,8%ig (A) bzw. 94,9%ig (B) inaktiviert.

Futterrübenblattextrakte wirken gegenüber dem TMV nach GRANT (1934) inaktivierend, was sich im eigenen Versuch mit 82,8 % (A) bzw. 86,7 % (B) bestätigte.

Extrakte von Tomatenblättern wirken gegenüber dem Gurkenmosaikvirus nach SILL und WALKER (1952) nur mäßig oder gering hemmend, während sie im eigenen Versuch das TMV recht erheblich, nämlich zu 95 % (A) bzw. 75 % (B) inaktivierten.

Extrakte verschiedener Farnarten wirken nach MANIL (1949) nur teilweise oder nicht deutlich oder sogar nicht inaktivierend gegenüber dem TMV, dem Tabaknekrosevirus bzw. dem Tabak-Ringfleckenmosaik-Virus. Im eigenen Versuch erwies sich der Laubextrakt einer nicht näher bestimmten Zierfarnart 78,7 % (A) bzw. 51,6 % (B) inaktivierend gegenüber dem TMV. Der Farnblattextrakt bewirkte eine Inaktivierung von 53,5 % (A) bzw. 38,3 % (B).

Nelkenpreßsäfte wirken nach VAN DER WANT (1951) stark inaktivierend gegenüber dem Tabaknekrosevirus und dem TMV, was sich im eigenen Versuch bei Blattextrakten der Gartennelke mit 69,2 % (A) bzw. 65,9 % (B) Inaktivierung des TMV bestätigte.

e) Eventuelle Zusammenhänge zwischen der Zugehörigkeit der geprüften Pflanzenarten zu bestimmten Pflanzenfamilien und ihrer inaktivierenden Wirksamkeit: Zur Klärung der Frage, ob bestimmte Pflanzenfamilien sich als besonders inaktivierend gegenüber dem TMV erweisen, wurden die geprüften Blatt- und Laubextrakte systematisch in die Pflanzenfamilien eingeordnet. Da von den einzelnen Familien meistens nur wenige Vertreter geprüft wurden, ergaben sich zu dieser Frage nur wenige Hinweise.

Sämtliche geprüften *Salix*arten erwiesen sich als nicht besonders stark inaktivierend, denn 80 % Inaktivierung werden von keinem Extrakt erreicht.

Die *Chenopodiaceae* wirken, wie auch aus den Versuchen von MANIL hervorgeht, stark inaktivierend. Ebenso erweisen sich die *Cruciferae*, zumindest bei stärkerer Extraktkonzentration, als ziemlich stark inaktivierend.

Von der Familie der *Rosaceae* wurden sehr viele Vertreter untersucht, wobei aber sehr unterschiedliche Inaktivierungswerte erhalten wurden, insbesondere bei den *Prunus*arten, wo sich schwach und stark inaktivierende Vertreter finden, während die geprüften Apfel- und Birnenblattextrakte eine recht hohe Inaktivierung zeigen.

Allgemein ist aber wohl festzustellen, daß genaue Aussagen über diese Frage erst nach genauer Prüfung einer großen Zahl von Vertretern einer Pflanzenfamilie gemacht werden können, insbesondere, da auch die verschie-

denen Sorten der gleichen Pflanzenarten (z. B. Süß- und Sauerkirschensorten) durchaus nicht immer gleich wirken.

2. Die inaktivierende Wirksamkeit von Extrakten bei Mischung von Extrakten und TMV-haltigem Preßsaft

a) Methodik: Bei der Extraktherstellung kamen frische grüne Blätter und vergilbendes Laub zur Verwendung, das im Gegensatz zum vorher geschilderten Versuch nicht lufttrocken war.

Tabelle 6

Inaktivierung des TMV durch Blatt- und Laubextrakte unter Verwendung von TMV-haltigem Preßsaft als Virusquelle

Abreibung auf je 4 Blättern Mischungsverhältnis: 1 TMV-Preßsaft + 3 Teile Extrakt

Blatt- bzw. Laubextrakte von:	Extrakte konzentriert Laub/ Wasser 1:3 Blätter/ Wasser 1:2 Läsionen links : rechts	Inaktivierung %	Extrakte verdünnt Laub/ Wasser 1:30 Blätter/ Wasser 1:10 Läsionen links : rechts	Inaktivierung %
1. Kirschlaub, gesund	33/0	100	10/3	70,0
2. Kirschenhexenbesenblätter	39/2	94,9	16/4	75,0
3. Apfellaub, gesund	44/3	93,2	14/8	42,9
4. Spitzahornblätter	24/2	91,7	28/3	89,3
5. Holunderblätter	17/2	88,2	9/6	33,3
6. Buchenlaub	21/3	85,7	17/8	52,9
7. Buchenblätter	28/4	85,7	6/4	33,3
8. Spitzahornlaub	21/3	85,7	7/9	+ 28,6
9. Kirschlaub mit Miniermottenbefall	33/5	84,8	7/4	42,9
10. Eichenlaub	19/4	78,9	25/21	16,0
11. Apfelblätter mit *Fusicladium*-befall	47/10	78,7	19/14	26,3
12. Blumenkohlblätter	28/7	75,0	17/9	47,1
13. Weinlaub	28/7	75,0	9/3	66,7
14. Kirschzweige mit *Monilia*-befall	14/4	71,4	7/2	71,4
15. Weißer Gänsefuß, Blätter	18/6	66,7	9/3	66,7
16. Birnenlaub, gesund	12/4	66,7	21/10	52,4
17. Apfelblätter (Herrnhut)	12/5	58,3	35/19	45,7
18. Thujablätter	17/8	52,9	5/9	+ 80,0
19. Birnenlaub mit *Fusicladium*-befall	4/2	50,0	11/6	45,5
20. Apfelblätter (Schöner von Nordhausen)	17/9	47,1	9/8	11,1
21. Durchschnitt	24/5	79,2	14/8	42,9

Der Extrakt wurde in zwei verschiedenen Konzentrationen hergestellt durch Übergießen von Laub bzw. Blättern mit Wasser (Näheres siehe Kopf der Tab. 6). Das Gemisch blieb über Nacht stehen und wurde ausgequetscht. Dann wurden jeweils drei Teile konzentrierten bzw. verdünnten Extrakts mit einem Teil TMV-haltigen Preßsafts gemischt. Bei der Kontrolle trat

Aqua dest. an die Stelle des Extrakts. Die Versuchsanstellung erfolgte wie üblich im Halbblatt-Test.

b) Besprechung der Einzelergebnisse (s. Tab. 6): In der Serie „Konzentrierter Extraktzusatz" zeigen alle 20 Extrakte der geprüften grünen Blätter- und vergilbenden Laubarten eine deutliche Inaktivierung des TMV, die im ungünstigsten Fall (Extrakt aus Apfelblättern der Sorte Schöner von Nordhausen) mit 47,1 % Inaktivierung noch relativ hoch liegt.

Auch in der Serie „Verdünnter Extraktzusatz" ergibt sich bei 16 von den 20 geprüften Extrakten eine deutliche Inaktivierung! Zwei Extrakte liegen innerhalb der ± 20 % Abweichung von der Kontrolle, zwei weitere zeigen eine Stimulierung.

Bei beiden Serien sind die Läsionszahlen recht niedrig, was sich daraus erklärt, daß der Test nur an jeweils vier von der Pflanze abgebrochenen Testtabakblättern in Glasschalen durchgeführt wurde.

c) Der Einfluß der Extraktkonzentration auf die Inaktivierung: Ein Vergleich der Serie „Konzentrierter Extraktzusatz" mit der Serie „Verdünnter Extraktzusatz" zeigt in der letztgenannten bei allen 20 geprüften Extrakten geringere Inaktivierungswerte. In dem vorher beschriebenen Versuch über die inaktivierende Wirksamkeit von 67 Extrakten gegenüber dem TMV in Kochsalzextrakt zeigte sich bereits die Tendenz, daß mit geringerer Extraktkonzentration auch eine geringere Inaktivierung erfolgt. Im vorliegenden Versuch über die inaktivierende Wirksamkeit von 20 Extrakten gegenüber dem TMV im Preßsaft zeigt sich das noch deutlicher. Diese Tatsache ist einmal durch den großen Konzentrationsunterschied im TMV-Preßsaftversuch zu erklären, wo in der Serie „Verdünnter Extraktzusatz" bei Blättern nur $^1/_{10}$ und bei Laub nur $^1/_5$ der Menge des Extraktes der Serie „Konzentrierter Extraktzusatz" zur Verfügung steht.

Zum anderen steht, wie schon im Kapitel über die Versuche mit Kulturfiltraten von Mikroorganismen erwähnt, im TMV-haltigen Preßsaft eine relativ große TMV-Menge zur Verfügung. Zur Inaktivierung der großen TMV-Menge wird also dementsprechend nur eine geringe Hemmstoffmenge benötigt. In dem auf den vorigen Seiten beschriebenen Versuch mit TMV-Kochsalzextrakt dagegen ist das Verhältnis der Extraktkonzentration der Serie A : B wie 1 : $^1/_3$. Dazu ist die im TMV-haltigen Kochsalzextrakt vorhandene TMV-Menge erfahrungsgemäß recht gering und benötigt somit eine relativ große Hemmstoffmenge zur Inaktivierung.

d) Vergleich mit den Ergebnissen des Versuchs mit 67 Extrakten unter Verwendung TMV-haltigen Kochsalzextrakts als Virusquelle: Ein Hinweis darauf, daß das Verhältnis TMV : Extrakt in dem Versuch mit 20 Extrakten unter Verwendung TMV-haltigen Preßsafts als Virusquelle recht günstig ist, ergibt sich aus der Höhe der Inaktivierungswerte. Es wurden in diesem Versuch, allerdings bei geringen Läsionszahlen, bei 6 von 9 vergleichbaren Extrakten in der Serie „Konzentrierter Extraktzusatz" höhere Inaktivierungs-

werte erhalten als in der Serie A des Versuchs mit 67 Extrakten unter Verwendung TMV-haltigen Kochsalzextrakts als Virusquelle, nämlich bei:

Kirschenhexenbesenblättern
Buchenlaub
Buchenblättern
Spitzahornlaub
Eichenlaub
Thujablättern.

Demgegenüber waren geringere Inaktivierungswerte festzustellen bei:

Apfelblättern mit *Fusicladium*befall
Weißem Gänsefuß, Blätter
Apfelblättern der Sorte Schöner von Nordhausen.

Beim Vergleich der Serie „Verdünnter Extraktzusatz" des Versuchs mit 20 Extrakten unter Verwendung TMV-haltigen Preßsaftes als Virusquelle und der Serie B des Versuchs mit 67 Extrakten unter Verwendung TMV-haltigen Kochsalzextrakts als Virusquelle wirken nur zwei von den neun Extrakten stärker inaktivierend im erstgenannten Versuch, nämlich:

Kirschenhexenbesenblätter
Buchenlaub.

Alle übrigen eben angeführten Extrakte wirken in der Serie „Verdünnter Extraktzusatz" weniger stark inaktivierend, was auch nicht allzu verwunderlich erscheint, da ja der Extraktgehalt in dieser Serie bedeutend geringer ist als in der Serie B des Versuchs mit TMV-Kochsalzextrakt als Virusquelle.

Die Extraktmenge in der entsprechenden Serie des TMV-Preßsaftversuchs ist wohl zu gering, um eine noch stärkere Inaktivierung des TMV im Preßsaft hervorzurufen, obwohl erfahrungsgemäß, in Anbetracht der großen TMV-Menge im zugesetzten Preßsaft, die zu einer stärkeren Inaktivierung notwendige Hemmstoffmenge gar nicht so sehr groß zu sein braucht.

3. Die inaktivierende Wirksamkeit verschiedener Laubarten bei Aufbewahrung TMV-haltiger Tabakblätter in sich zersetzender Pflanzenmasse (s. Tab. 7)

a) Methodik: Blumentöpfe von 15,5 cm Höhe und 18 cm oberem Durchmesser wurden mit grünen Blättern oder überwintertem Laub gefüllt, ein Stein wurde zur Beschwerung auf die Pflanzenmasse gepackt, das Ganze des öfteren gut angefeuchtet und etwa sechs Wochen sich selbst überlassen.

In die sich zersetzende Masse wurden dann nach dieser Zeit kleine perforierte Glasröhrchen gesteckt, in denen sich eine bestimmte Menge frischen TMV-haltigen Blattmaterials befand. In die Enden der Röhrchen wurden kleine Zellstoffpfropfen gesteckt, um ein Herausrutschen des TMV-haltigen Tabakmaterials zu verhindern. Nach weiteren sechs Wochen wurden die Glasröhrchen den Töpfen wieder entnommen und ihr Inhalt mit 1 ccm Aqua dest. im Mörser fein zerrieben und, wie bei der Halbblattmethode üblich, auf Testtabakblättern abgerieben. Als Kontrolle wurde getrocknetes TMV-haltiges Tabakmaterial verwendet, das mit der gleichen Menge Aqua dest. im Mörser zerrieben wurde.

Die Mörser und Stößel wurden nach dem Zerreiben eines jeden Komposröhrcheninhalts mit vergälltem Alkohol ausgewaschen und anschließend mit Wasser ausgespült und getrocknet.

Tabelle 7

Inaktivierung des TMV in sich zersetzenden Blatt- und Laubmassen unter Verwendung von TMV-haltigen Tabakblättern als Virusquelle (Kompoströhrchenversuch)

Blatt- bzw. Laubarten:	Blattzahl	Läsionen links : rechts	Inaktivierung %
Apfellaub mit *Fusicladium*befall	8	19/10	47,4
Apfellaub, gesund	8	12/1	91,7
Birnenlaub mit *Fusicladium*befall	8	50/1	98,0
Birnenlaub, gesund	8	30/2	93,3
Kirschlaub mit Miniermottenbefall	8	29/4	86,2
Kirschzweige mit *Monilia*befall (Schattenmorelle)	8	11/72	+ 554,5
Kirschlaub, gesund	8	15/6	60,0
Weinlaub mit *Plasmopara*befall	8	22/22	0
Eichenlaub	8	43/8	81,4
Spitzahornlaub	8	35/13	62,9
Spitzahornblätter	8	34/2	94,1
Holunderblätter	8	30/131	+ 336,7
Thujablätter	8	43/46	+ 7,0
Blumenkohlblätter	4	72/2	97,2
Weißer Gänsefuß, Blätter	8	25/49	+ 96,0
Welke Tabakblätter (Samsun)	4	16/2	87,5
Grüne Tabakblätter (Samsun)	16	72/47	34,7
Kompostierte gedämpfte Erde	8	95/51	46,3

Weitere Abreibungen, die nach längerer Zeit der Aufbewahrung der Kompoströhrchen in dem sich zersetzenden Pflanzenmaterial durchgeführt wurden, konnten nicht ausgewertet werden, da das in den Röhrchen enthaltene TMV-haltige Tabakmaterial sehr stark zusammenschrumpfte und außerdem die Läsionsbildung nach den Abreibungen auf Testtabak wegen ungünstiger Belichtungsverhältnisse oft nur sehr schwach war und manchmal ganz ausblieb. Diese geringe Läsionsbildung geht auch aus der in der Tabelle bei jeder Laub- bzw. Blattart angegebenen verschiedenen Blattzahl des Testtabaks hervor.

In der Regel wurden nämlich acht Blätter abgerieben, bei einigen zeigten sich aber weder auf der Kontrollblatthälfte noch auf der Hälfte, auf der TMV-haltiger Kompoströhrcheninhalt abgerieben wurde, Läsionen, so daß die angegebenen Blattzahlen wechseln.

b) Besprechung der Einzelergebnisse: Der TMV-Gehalt des jeweils verwendeten TMV-haltigen Blattmaterials ist sehr verschieden. Außerdem waren die Schwankungen der Läsionszahlen bei Abreibung des gleichen Infektionsmaterials auf beiden Seiten der Testtabakblätter sehr groß, was besonders aus der Tatsache hervorgeht, daß sich bei beidseitiger Abreibung der TMV-Kontrolle auf der rechten Blatthälfte 45,4 % weniger Läsionen als auf der linken Blatthälfte zeigten.

Eine Dosierung der einzelnen Röhrcheninhalte wie auch der TMV-Kontrollen ist in diesem Versuch nicht so leicht durchzuführen wie bei der Verwendung einer flüssigen Präparierung!

Die auf der Tabelle 7 angegebenen Inaktivierungsprozente haben deshalb nur geringen orientierenden Wert. Es kann aus dem Versuch aber entnommen werden, daß das TMV des TMV-haltigen Tabakmaterials keinesfalls völlig inaktiviert wird durch 6wöchigen Aufenthalt in sich zersetzen-

den Blattmassen oder Laubmassen bzw. in gedämpfter Komposterde, obwohl diese einen völlig verschiedenen Zersetzungsgrad nach der relativ kurzen Aufbewahrungszeit aufwiesen, z. B. hatten sich die recht sperrigen Thujablätter nur recht schwach zersetzt.

4. Versuch über die Reversibilität der durch einige Blatt- und Laubextrakte hervorgerufenen Inaktivierung (s. Tab. 8)

a) Methodik: s. Methodischer Teil (Kap. B IV).

b) Besprechung der Einzelergebnisse hinsichtlich der erreichten Inaktivierung des TMV: Es wurden Extrakte herausgesucht, die sich in vorherigen Versuchen gegenüber dem TMV in Kochsalzextrakt oder Preßsaft als besonders inaktivierend erwiesen hatten. Zur Orientierung wurden diese in den vorhergehenden Versuchen erzielten Inaktivierungswerte noch einmal in der Tabelle aufgeführt.

Es fällt auf, daß im vorliegenden Reversibilitätstest diese Inaktivierungswerte fast in keinem Falle erreicht wurden und in einigen Fällen sogar Werte auftreten, die innerhalb der ± 20 % Abweichung liegen.

Dieses ist wohl darauf zurückzuführen, daß die TMV-Menge in den Agarscheiben durch die besondere Herstellungsmethode relativ gering ist und deshalb, wie schon wiederholt betont, eine große Hemmstoffwirkung zur Inaktivierung der geringen TMV-Menge notwendig wäre.

Zwar steht den Agarscheiben bei der Aufbewahrung in Extrakten eine recht große Hemmstoffmenge zur Verfügung. Man müßte deshalb annehmen, daß auch, analog zu den in Mikroorganismen-Kulturflüssigkeiten aufbewahrten TMV-haltigen Blattscheiben, hohe Inaktivierungswerte erzielt werden. Dem ist aber nicht so, offenbar weil die Diffusion der z. T. recht dickflüssigen und dunkelgefärbten Extrakte nur recht langsam und weniger intensiv vor sich zu gehen scheint, als auf Grund der Verfärbung der Agarscheiben anzunehmen wäre.

Wenn Johnson (1941) mit dieser Methode recht hohe Inaktivierungswerte bei der Beeinflussung des TMV durch Chemikalien erhielt, so ist das wohl durch die weniger komplizierten Diffusionsverhältnisse der relativ einheitlichen dünnflüssigen Lösungen der Chemikalien bedingt.

c) Besprechung der Reversibilität der Inaktivierung: Die eigentliche Fragestellung des Versuchs, nämlich ob reversible oder irreversible Inaktivierungen des TMV vorliegen, wird aber trotz der nicht ganz so hohen Inaktivierungswerte gut und bei den meisten Extrakten im Sinne einer reversiblen Inaktivierung beantwortet.

Im Test I erweisen sich nämlich von den 18 geprüften Extrakten 15 als mehr oder weniger stark reversibel, im Test II dagegen nur 12, und bei einer Summierung der Läsionszahlen von I und II nur 10.

Allerdings sind es nicht in beiden Tests dieselben Extrakte, bei denen sich die Inaktivierung des TMV als reversibel erweist. In beiden Tests bilden

Asternblätter und Weinlaub eine besondere Ausnahme. Die auftretende Stimulierung der Infektiosität des TMV macht das Bild etwas unklar. Bei Asternblättern Test I erweist sich die Inaktivierung als nicht reversibel, im Test II scheint durch den Übergang von der Stimulierung zur leichten Inaktivierung (nach Wässerung der im Extrakt aufbewahrten TMV-haltigen Agarscheiben) die Stimulierung reversibel zu sein.

Bei Weinlaub Test I (Übergang von der Stimulierung zur Inaktivierung) und Test II (Nachlassen der Stimulierung) scheint ebenso eine reversible Stimulierung vorzuliegen.

JOHNSON (1941) kam im Reversibilitätstest mit Safranin, Zinksulfat und einigen anderen Verbindungen zu einem ähnlichen Ergebnis. Safranin, Zinksulfat usw. bewirkten nämlich erst nach Wässerung der mit ihnen behandelten TMV-Agarscheiben eine Inaktivierung des TMV.

Im genauen Gegensatz zu der eben besprochenen Erscheinung bei Asternblätter- und Weinlaubextrakt stehen einige andere Fälle. Die Inaktivierung des TMV in den extraktbehandelten Agarscheiben wird nämlich nach der Wässerung in diesen Fällen, insbesondere bei Beifußblätterextrakt, nicht nur geringer, sondern es tritt sogar eine Stimulierung gegenüber den nicht extraktbehandelten TMV-Kontrollagarscheiben auf.

Diese Tatsache ist schwer zu erklären, evtl. mit der Hypothese, daß durch die Aufbewahrung der TMV-Agarscheiben in den betr. Extrakten gleichzeitig zwei Reaktionen ausgelöst werden:

1. Spaltung der durch die besondere Herstellungsmethode in den Agarscheiben entstandenen TMV-Molekülaggregate zu kleineren Molekülverbänden oder Einzelmolekülen, dadurch Erhöhung der Zahl der infektiösen TMV-Teilchen gegenüber den nicht mit Extrakt behandelten TMV-Kontrollagarscheiben.
2. Blockierung bestimmter spezifischer Gruppen bei einem Teil der TMV-Moleküle, der dadurch so stark inaktiviert wird, daß die Gesamtinfektiosität des in den extraktbehandelten Agarscheiben enthaltenen TMV sinkt gegenüber den TMV-Kontrollagarscheiben.

Bei Wässerung der vorher im Extrakt aufbewahrten TMV-haltigen Agarscheiben könnte dann folgendes geschehen:

1. Die Molekülverbände bzw. Einzelmoleküle werden nicht beeinflußt, die Zahl der infektiösen TMV-Teilchen bleibt weiterhin erhöht gegenüber den TMV-Kontrollagarscheiben.
2. Die Blockierung der spezifischen Gruppen bei dem einen Teil der TMV-Moleküle und die damit verbundene Inaktivierung wird in bestimmtem Ausmaß aufgehoben, und zwar so weit, daß die Gesamtinfektiosität des in den zuerst extraktbehandelten und dann gewässerten Agarscheiben enthaltenen TMV gegenüber dem in den TMV-Kontrollagarscheiben zunimmt.

Der Beweis einer Richtigkeit dieser Erklärung ist allerdings vorläufig schwierig zu führen, da man berücksichtigen muß, daß die Frage, ob die In-

Tabelle 8

Versuch über die Reversibilität der durch Extrakte grüner Blätter und vergilbenden Laubes bewirkten Inaktivierung des TMV in Agarscheiben (= Reversibilitätstest)

Testung auf je 8 Blättern

Blatt- bzw. Laubextrakte von:	pH des Extraktes	% Inaktivierung gegenüber TMV in Kochsalzextrakt oder Preßsaft	I. Testung				II. Testung			
			Agarscheiben in Extrakt Läsionen links zu rechts	Inaktivierung %	Agarscheiben in Extrakt anschl. gewässert	Inaktivierung %	Agarscheiben in Extrakt Läsionen links zu rechts	Inaktivierung %	Agarscheiben in Extrakt anschl. gewässert	Inaktivierung %
Johannisbeerblätter	4,7	100	56/49	12,5	163 143	12,3	213/218	+ 2,3	121/114	5,8
Petersilienblätter	4,9	100	107/41	61,7	180/112	37,8	221/222	+ 0,5	160/120	25,0
Lindenlaub	6,3	98,0	113/57	49,6	141 117	17,0	279 230	17,6	227/329	+44,9
Beifußblätter	6,6	96,2	97/29	70,1	38/42	+10,5	164/131	20,1	46/57	+23,9
Weißer Gänsefuß, Blätter	6,1	96,0	23 18	21,7	91/17	81,3	174 85	51,2	41 23	43,9
Zuckerrübenblätter	5,3	95,8	146 23	84,2	29/12	58,6	249/102	59,0	248/110	55,6
Tomatenblätter	5,8	95,0	148/112	24,3	260/257	1,2	93 48	48,4	597 424	28,5
Spitzahornblätter	4,9	(91,7)	83 31	62,7	121 55	54,5	197 196	0,5	472/297	37,1
Apfelblätter mit *Fusicladium*befall	5,1	88,2	71/57	19,7	77 97	+26,0	99 79	20,2	205/185	9,8
Futterrübenblätter		82,8	49 30	38,8	31 21	32,3	100/40	60,0	251/172	31,5
Ulmenblätter	5,0	82,2	175 82	53,1	182 217	+19,2	106 47	55,7	194 97	50,0
Spitzahornlaub	4,9	81,8	56/21	62,5	175 71	59,4	239 218	8,8	234 284	+21,4
Kirschenhexenbesenblätter	4,8	81,1	36 21	41,7	303 192	36,6	84/82	2,4	73/74	+ 1,4
Asternblätter	4,6	77,8	15 10	33,3	111/27	75,7	173/237	+ 37,0	670 594	11,3
Topinamburblätter	7,1	77,1	80 56	30,0	58/54	6,9	141/66	53,2	67/43	35,8
Kohlrübenblätter	4,7	76,9	16/12	25,0	151 157	+ 4,0	104/71	31,7	62 56	9,7
Weinlaub	3,5	(75,0)	27 36	+33,3	121 86	28,9	276 346	+25,4	213/260	+22,1
Eichenlaub	4,6	29,0	208 161	22,6	125 127	+ 1,6	348 324	6,9	334/211	36,8

Erklärung: ( ) = Zahlen aus dem Versuch mit TMV-Preßsaft

aktivierung eines Virus durch eine bestimmte Substanz auf Aggregation und damit auf Verminderung der Zahl der infektiösen Teilchen beruht, oder ob sie auf einer Blockierung bestimmter Molekülteile ohne Größenveränderung beruht, erst durch schwierig durchzuführende elektronenmikroskopische Untersuchungen geklärt werden könnte.

Ebenso kann erst recht eine u. U. auf mehrere Komponenten zurückzuführende Inaktivierung oder Stimulierung eines Virus mit der evtl. damit verbundenen Spaltung von Molekülaggregaten nur auf dem gleichen mühsamen Wege bewiesen werden.

5. Der Einfluß der Pufferung auf die inaktivierende Wirksamkeit einiger Blatt- und Laubextrakte (Tab. 9)

a) Methodik: Ebenso wie im Pufferungsversuch mit Kulturfiltraten von Mikroorganismen wurde auch im vorliegenden Versuch TMV-haltiger Preßsaft als Virusquelle verwendet. Ausgetestet wurden TMV-Blatt- bzw. Laubextrakt-Mischungen ohne und mit Zusatz von Sörensen-Phosphat-Puffergemisch (pH 7) (Näheres siehe Kopf der Tab. 9).

In den beiden Kontrollen wurde an Stelle der Blatt- bzw. Laubextrakte Aqua dest. verwendet. Die Austestung erfolgte in der für die Halbblattmethode üblichen Weise.

b) Besprechung der Einzelergebnisse hinsichtlich der erhaltenen Inaktivierung des TMV: Die im vorliegenden Versuch in den Serien I und II erzielten Inaktivierungsergebnisse liegen bei den einzelnen Blatt- bzw. Laubextrakten mit ganz wenigen Ausnahmen bedeutend niedriger als in den Serien A und B des Versuches über die inaktivierende Wirksamkeit von 67 Blatt- und Laubextrakten unter Verwendung TMV-haltigen Kochsalzextrakts als Virusquelle bzw. in den Serien „Konzentrierter Extraktzusatz" und „Verdünnter Extraktzusatz" des Versuches mit 20 Extrakten unter Verwendung TMV-haltigen Preßsafts als Virusquelle, wobei der Vergleich mit dem letzten Versuch nur für acht Extrakte möglich ist.

Die im vorliegenden Falle erhaltenen niedrigen Inaktivierungswerte sind sicherlich darauf zurückzuführen, daß die in dem Preßsaft enthaltene TMV-Menge zu groß war, um durch die zugefügte Blatt- bzw. Laubextraktmenge eine merkliche Inaktivierung des TMV zu erleiden.

Daß der TMV-Gehalt des Preßsafts recht hoch war, geht aus den hohen Läsionszahlen hervor, die in einigen Fällen über 1000 (auf 12 Blättern) hinausgehen und damit die von BAWDEN (1950) für eine günstige Versuchsauswertung bezeichnete obere Grenze von 40 Läsionen pro Blatthälfte wesentlich überschreiten.

Dabei ist zu berücksichtigen, daß im vorliegenden Versuch als Testtabak *Nicotiana texana* verwendet wurde, mit dem allgemein höhere Läsionszahlen als mit *Nicotiana glutinosa* erzielt wurden.

Tabelle 9 Einfluß der Pufferung auf die Inaktivierung des TMV durch Extrakte von grünen Blättern und vergilbendem Laub

Mischungsverhältnis: 1 TMV-Preßsaft + 1 Extrakt + 2 Aqua dest. bzw. Puffer — Testung auf je zwölf Blättern.

Blatt- bzw. Laubextrakte von:	% Inaktivierung gegenüber TMV in Kochsalzextrakt (Serie A)	pH des Extraktes	pH-Werte der Mischung I	I TMV ungepuffert: Extrakt + TMV ungep. Läsionen links : rechts	Inaktivierung %	II TMV gepuffert: Extrakt + TMV gepuffert Läsionen links : rechts	Inaktivierung %
Johannisbeerblätter	100	4,80	4,90	906/477	47,4	168 141	16,1
Weißer Gänsefuß, Blätter	96,0	6,10	5,35	560/225	59,8	671 98	85,4
Zuckerrübenblätter	95,8	4,93	4,93	410/80	80,5	283/91	67,8
Kirschblätter (Schneiders späte Knorpelkirsche)	92,3	5,46	5,16	275/144	47,6	949/885	6,8
Johannisbeerblätter krank (Befall mit *Pseudopeziza ribis*, außerdem Blattrandkrankheit)	88,4	6,13	5,06	545/505	7,3	356/114	68,0
Apfelblätter mit *Fusicladium*-Befall	88,2	5,03	4,94	764 815	+ 6,7	369 268	27,4
Pfirsichblätter	82,8	5,15	5,00	678/165	75,7	1055 929	11,9
Ulmenblätter gesund	82,2	5,00	—	949/133	86,0	440/215	51,1
Farnlaub	78,7	5,43	4,95	149 93	37,6	512 516	+ 0,8
Apfelblätter (Schöner von Nordhausen)	77.2	4,94	4.94	1102/1100	0,2	289/246	14,9
Buchenlaub	73,0	4,72	4,90	1021/991	2,9	1309 1174	10,3
Kiefernnadeln	65,6	5,05	5,73	446/348	22,0	1463 922	37,0
Birnenblätter	62,1	4,98	4,97	229/220	3,9	1967 1521	22,7
Blumenkohlblätter	62,0	5,20	—	490/362	26,1	1563 1162	25,7
Kiefernlaub	59,5	4,05	4,76	378 339	10,3	752/917	+ 21,9
Farnblätter	53,5	5,21	5,39	159/112	29,6	1416/1258	11,2
Thujablätter	49,3	5,25	4,96	774/457	41.0	1754 1404	20
Thujalaub	43,9	4,76	4,90	759/578	23,8	1404/1209	13,9
Buchenblätter	37,0	4,97	4,93	268/174	35,1	1500/1381	7,9
Walnußblätter	30,6	5,83	5,20	157/93	40.8	1237/875	29,3
Eichenlaub	29,0	4,62	4,89	696/301	56,8	1320/1320	0
Eichenblätter	+ 20,3	5,33	5,00	765/481	37,1	1294/1212	6,4

Die Feststellung, daß der TMV-Gehalt des Preßsafts zu hoch ist, um durch die zugesetzte Extraktmenge eine merkliche Inaktivierung zu erleiden, steht zu den bisher zur Konzentrationsfrage gemachten Bemerkungen nicht im Gegensatz. Es war besprochen worden, daß, je geringer die Virusmenge ist, um so größer die zur Inaktivierung des Virus notwendige Hemmstoffmenge ist. Oder umgekehrt: Je größer die Virusmenge, um so geringer die zur Inaktivierung des Virus notwendige Hemmstoffmenge!

Im vorliegenden Versuch scheint eben die im Extrakt vorhandene Hemmstoffmenge zu gering zu sein, um die sehr große TMV-Menge merklich inaktivieren zu können.

c) Besprechung des Einflusses der Pufferung auf die inaktivierende Wirksamkeit der Extrakte: Beim Vergleich der Serie II (TMV gepuffert : Extrakt + TMV gepuffert) mit der Serie I (TMV ungepuffert : Extrakt + TMV ungepuffert) ergibt sich, daß von den 22 geprüften Blatt- und Laubextrakten 15 bei Pufferzusatz geringere Inaktivierungswerte aufweisen als ohne Pufferzusatz. Die Extrakte folgender sieben Blatt- bzw. Laubarten zeigen höhere Inaktivierungswerte bei Pufferzusatz:

Weißer Gänsefuß, Blätter
Johannisbeerblätter, krank (Befall mit *Pseudopeziza ribis*, außerdem Blattrandkrankheit)
Apfelblätter mit *Fusicladium*befall
Apfelblätter (Schöner von Nordhausen)
Buchenlaub
Kiefernnadeln
Birnenblätter.

Dabei ist zu bemerken, daß fünf dieser Extrakte in der Serie I Inaktivierungswerte zeigen, die innerhalb der ± 20 % Abweichung von der Kontrolle liegen.

Zusammenfassend ist festzustellen: Im Pufferungsversuch mit Kulturfiltraten von Mikroorganismen zeigte sich bei allen Filtraten eine Verminderung der inaktivierenden Wirksamkeit durch Pufferzusatz.

Der Pufferungsversuch mit Blatt- und Laubextrakten zeigt, wenn auch nicht ganz so ausgeprägt, die gleiche Tendenz.

6. Serologisches Verhalten des TMV nach Extrakteinfluß

a) Vorversuch: Die Verwendung von TMV-Kochsalzextrakt in Serumtests war notwendig, da es sich im Vorversuch herausstellte, daß TMV-Preßsaft als Virusquelle für serologische Tests, bei denen Blatt- und Laubextrakte verwendet wurden, nicht in Frage kam.

In dem Vorversuch, der gemeinsam mit R. BARTELS im Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig durch-

Tabelle 10

Verschiebung des Serumverdünnungsendpunktes durch Blatt- und Laubextrakte

Art	Extrakt nur zentrifugiert			Extrakt zentrifugiert und bakterienfiltriert	
	1. AS P_{II}	2. AS P_{II}	3. AS Aug.	4. AS P_{II}	5. AS P_{II}
Rotkohlblätter					
Johannisbeerlaub, krank (Befall durch *Pseudopeziza ribis*)	0				
Apfelblätter mit *Fusicladium*-befall		+++	+ u		0
Weißkohlblätter	—				
Rosenkohlblätter	— —				
Ackerbohnenblätter	+++				
Pfirsichblätter	0				
Apfelblätter (Schöner von Nordhausen)	++ ?			—	
Kohlrübenblätter	—	0	0	—	0
Pflaumenblätter	++			—	
Birnenblätter	++			0	
Blumenkohlblätter	+				
Blumenkohlwurzeln	0				
Apfelblätter	+				
Petersilienblätter		0	0		0
Lindenlaub		0	0		0
Beifußblätter		0	0		0
Weißer Gänsefuß, Blätter		— — ?	—		0
Zuckerrübenblätter		0	+++ u		
Tomatenblätter		0	—		0
Spitzahornblätter		+	+		0
Futterrübenblätter		+ ?	0		—
Spitzahornlaub		+	+		0
Kirschenhexenbesenblätter		—	0		0
Asternblätter		0	0		0
Topinamburblätter		0	+++		0
Weinlaub		+++u ?	+++u ?		
Ulmenblätter			0		0
Eschenlaub			0		
Brombeerblätter				0	
Weidenlaub					+ ++
Eichenlaub					0

Erklärungen: AS P_{II} = Antiserum des Versuchstieres Pollux II.
AS Aug. = Antiserum des Versuchstieres Augustus.

— = — — TMV-Extraktgemisch reagiert etwas bzw. viel schwächer als die unbehandelte TMV-Kontrolle, d. h. Verschiebung des Serumverdünnungsendpunktes zur stärkeren Antiserum**konzentration** in der Verdünnungsreihe.

\+ = + + = + + + TMV-Extraktgemisch reagiert etwas stärker bzw. viel oder sehr viel stärker als die unbehandelte TMV-Kontrolle, d. h. Verschiebung des Serumverdünnungsendpunktes zur stärkeren Antiserum**verdünnung** in der Verdünnungsreihe.

O = TMV-Extraktgemisch reagiert ebenso wie die unbehandelte TMV-Kontrolle, d. h. keine Verschiebung des Serumverdünnungsendpunktes.

u = Unspezifische Reaktionen treten in den Verdünnungsreihen z. T. auf.

? = Nicht einwandfrei anzusprechende Agglutinationen treten in den Verdünnungsreihen z. T. auf.

geführt wurde, kamen folgende Extrakte grüner, lufttrockener Blätter bzw. vergilbenden, lufttrockenen Laubs zur Prüfung:

Buchenlaub
Buchenblätter
Spitzahornlaub
Spitzahornblätter
Apfellaub
Apfelblätter mit *Fusicladium*befall
Holunderblätter
Eichenlaub
Blumenkohlblätter
Kirschblätter (Kassins Frühe)
Kirschlaub (Kassins Frühe)
Kirschlaub (Hedelfinger)
Kirschlaub mit Miniermottenbefall (Hedelfinger)
Sauerkirschenlaub (Schattenmorelle)
Sauerkirschenlaub mit Miniermottenbefall (Schattenmorelle)
Sauerkirschenblätter (Schattenmorelle)
Kirschenhexenbesenblätter (Ostheimer Weichsel)
Thujablätter.

Viele dieser 18 Blatt- und Laubextrakte ergeben, wenn man von ihnen einen Tropfen mit einem Tropfen Tabakpreßsaft der Sorten Samsun oder White Burley (ganz gleich, ob dieser X- oder Y-Virus enthält oder virusfrei ist) auf einem Objektträger zusammengibt, starke Flockungen, ohne daß die Gemische bebrütet wurden. Durch anschließende Bebrütung (23° C/20 Min.) wurde diese Flockung nicht beeinflußt.

Bei Zusammengabe von verschiedenen Extrakten und Serumblättchen, an die X-Antiserum oder Normalserum angetrocknet war, ergaben nur einige Extrakte eine starke Flockung. Es waren das die von Buchenlaub, Buchenblättern und Spitzahornblättern.

Bei Zusammengabe von Extrakten mit flüssigem X-Antiserum, Y-Antiserum oder Normalserum ergaben sich, auch nach Bebrütung, in der Regel keine Flockungen. Lediglich bei Buchenlaub + Y-Antiserum erfolgte eine leichte Flockung. Auch der Blumenkohlblätterextrakt flockte sehr stark mit allen drei Antiseren!

Bei den Extrakten, die mit Samsun- bzw. White-Burley-Saft keine Flockung ergaben, zeigte sich eine solche auch nicht, wenn Extrakt + Samsunsaft + Normalserum-Blättchen zusammengegeben wurden.

Aus den Tests ging also als wesentlich hervor:

1. Zusammengabe gewisser Blatt- und Laubextrakte mit Tabakpreßsaft bedingt eine Flockung.
2. Zusammengabe von Blatt- und Laubextrakten mit flüssigen Seren ergibt in der Regel keine Flockung.

Somit kann in Tests, bei denen Blatt- und Laubextrakte verwendet werden, kein Tabakpreßsaft als Virusquelle benutzt werden, sondern das Virus muß in anderer Form geprüft werden. Das zur Verwendung kommende Serum müßte in flüssiger Form verwendet werden.

Ein letzter Test gab dieser Überlegung recht. Die Kombination Blatt- oder Laubextrakte + Normalserum flüssig + TMV in Kochsalzextrakt ergab nur bei Blumenkohlblätterextrakt, wie auch in den vorherigen Tests, eine unspezifische Reaktion. Bei den übrigen Extrakten erfolgte z. T. keine Flockung, z. T. ergaben sich in einzelnen Fällen leichte Trübungen, insbesondere bei den Extrakten, wo die Mischung Extrakt + Tabaksaft stark flockte. Es wurde angenommen, daß diese Trübungen die spätere Ansprache von Agglutinationen nicht stören würden, was sich auch in den nun zu schildernden Serumtests, unter Verwendung von TMV-Antiserum, als richtig erwies.

b) Methodik: Fragestellung und Methodik waren die gleichen wie im Versuch über das serologische Verhalten des TMV nach Beeinflussung durch Mikroorganismen-Filtrate. Alles Nähere wurde bereits im Kapitel C I-5 besprochen, wobei auch auf Tabelle 4 das genaue Schema eines solchen Versuchs zu sehen ist.

An Stelle der Filtrate wurden jedoch in den vorliegenden Versuchen Blatt- oder Laubextrakte geprüft, welche vor der Prüfung bei 1300 U/Min. zentrifugiert bzw. zentrifugiert und bakterienfiltriert wurden.

Es wurden somit auf Objektträgern zweifach zusammengegeben:

je 1 Tropfen Blatt- oder Laubextrakt
je 1 Tropfen TMV-haltiger Kochsalzextrakt
je 1 Tropfen Antiserum der Verdünnungsreihe (konzentriert bis 1 : 5000).

Die Agglutinationsergebnisse wurden, wie üblich, mit Kontrollen verglichen, bei denen der Laub- bzw. Blattextrakt in der Mischung durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt war. Ebenso wurden auch in diesem Versuch Proben vorgenommen, bei denen an Stelle des Antiserums Normalserum nicht geimpfter Kaninchen oder physiologische Kochsalzlösung verwendet wurde.

c) Besprechung der Einzelergebnisse der Versuche mit Serumverdünnungen (s. Tab. 10): Es zeigte sich allgemein, daß die Reaktion zwischen TMV als Antigen und dem Antikörper des TMV-Antiserums bei stärkeren Serumkonzentrationen durch die zugesetzten Extrakte nicht beeinflußt wird. Es ergab sich nämlich bei den stärkeren Antiserumkonzentrationen stets eine deutliche Agglutination.

Bei den geringeren Antiserumkonzentrationen ist jedoch festzustellen, daß das TMV nach Beeinflussung durch Extrakte nicht mehr genau so reagiert wie eine TMV-Kontrolle, die nicht mit Extrakt behandelt wurde, sondern stärker oder schwächer als diese.

Die wichtigsten Ergebnisse der Tests wurden in Tabelle 10 zusammengestellt.

Dabei wurden die Extrakte in den einzelnen Tests nach dem ungefähren Grade ihrer inaktivierenden Wirksamkeit gegenüber dem TMV aufgeführt, wie er sich aus den bisher besprochenen Halbblatt-Tests ergab.

Bei dem Test in der ersten Tabellenspalte kamen 13 zentrifugierte, aber nicht bakterienfiltrierte Extrakte zur Verwendung. Bei sechs von ihnen verschiebt sich der Verdünnungsendpunkt des TMV-Antiserums unter dem Einfluß der Extrakte zur stärkeren Verdünnung hin. Das heißt, das TMV-Antiserum agglutiniert mit dem TMV noch bei Zusatz der betreffenden Extrakte in einer Verdünnung, die bei der Kontrolle, wo an Stelle des Extrakts physiologische Kochsalzlösung zugesetzt wurde, keine deutliche Agglutination mehr zeigt.

Drei Extrakte beeinflussen den Antiserumverdünnungsendpunkt nicht, die Tests zeigen die gleichen Ergebnisse wie die Kontrolle. Vier Extrakte verschieben den Verdünnungsendpunkt zur stärkeren Konzentration und zeigen damit die gleiche Wirkung, die alle Filtrate von Mikroorganismen im Serumtest zeigten.

In den Tests 2 und 3 mit besonders inaktivierend wirkenden Laubarten wurden verschiedene Antiseren verwendet (Antiserum Augustus und Antiserum Pollux II), um festzustellen, ob sich verschiedene Antiseren gegenüber denselben Extrakten verschieden verhalten. Ein Vergleich dieser Versuche zeigt im wesentlichen, nämlich bei 10 von 15 vergleichbaren Extrakten, die gleichen Ergebnisse.

Es verschieben nämlich vier Extrakte den Antiserumverdünnungsendpunkt einwandfrei zur stärkeren Serumverdünnung hin, die TMV + Extrakt-Gemische reagieren also stärker als die unbehandelte TMV-Kontrolle.

Ein Extrakt verschiebt den Antiserumverdünnungsendpunkt zur stärkeren Antiserumkonzentration.

Fünf Extraktgemische reagieren ebenso wie die Kontrolle, die übrigen liefern verschiedene Ergebnisse in den beiden Tests.

Im vierten Test wurden drei Extrakte, deren Mischungen in den vorgenannten Versuchen noch mit einer starken Antiserumverdünnung reagierten, nochmals geprüft, und zwar nach Filtration durch ein Schott-Bakterienfilter. Außerdem wurde Kohlrübenblätterextrakt, der in vorherigen Versuchen auch ohne Serum nur mit physiologischer Kochsalzlösung eine stark grießige Flockung zeigte, als Bakterienfiltrat nochmals ausgetestet, dazu noch bisher nicht untersuchter Brombeerblätterextrakt.

Es ergab sich, daß Birnenblätterextrakt und Brombeerblätterextrakt in bakterienfiltriertem Zustande den Serumverdünnungsendpunkt, verglichen mit der Kontrolle ohne Extrakt, nicht verschoben.

Bei den übrigen Extrakten verschob sich der Verdünnungsendpunkt des Serums zur stärkeren Konzentration, nämlich von 1 : 100 auf 1 : 50.

Im fünften Test zeigen, mit Ausnahme des in den vorhergehenden Versuchen nicht geprüften Weidenlaubextrakts, alle Mischungen mit bakterienfiltrierten Extrakten den gleichen Antiserumverdünnungsendpunkt wie die Kontrolle.

Der Extrakt von weißen Gänsefußblättern weist nicht mehr die Verschiebung des Antiserumverdünnungsendpunktes zur stärkeren Konzentra-

tion auf, wie das der Fall war, wenn dieser Extrakt nur zentrifugiert verwendet wurde.

Die TMV + Extrakt + Antiserum-Mischung des Weidenlaubextraktes zeigte noch bei stärksten Antiserumverdünnungen (1 : 5000) eine Flockung.

Spitzahornblätter, Spitzahornlaub und Asternblätter gaben vereinzelt bei Antiserumverdünnungen von 1 : 500 und 1 : 1000 noch ganz leichte Flockungen, die aber nicht einwandfrei als Agglutinationen anzusprechen waren und das Ergebnis der vorhergehenden Versuche mit denselben Extrakten widerspiegeln, bei denen diese den Antiserumverdünnungsendpunkt zur stärkeren Konzentration hin verschoben.

Bei diesen drei zuletzt genannten Extrakten und besonders bei dem Extrakt von Apfelblättern mit *Fusicladium*befall zeigt sich die gleiche Tendenz wie bei den genannten Exrakten des vierten Tests.

Es scheinen nämlich durch das Passieren des Bakterienfilters die Extrakte in der Richtung beeinflußt zu werden, daß Bestandteile, die eine auf TMV-Anwesenheit beruhende Agglutination auch bei den stärksten Antiserumverdünnungen vortäuschen, durch einfache Zentrifugierung bei 1300 U/Min. aus dem Extrakt nicht entfernt werden können, sondern nur durch Passage von Bakterienfiltern.

Bekräftigt wird diese Tatsache noch durch die Ergebnisse mit Topinamburblätterextrakt und weitere Versuche mit Johannisbeerblätterextrakt. Bei diesen lassen sich Mischungen von TMV-haltigem Kochsalzextrakt und nicht bakterienfiltriertem Extrakt mit Antiserumverdünnungen überhaupt nicht auswerten, da starke agglutinationsähnliche Flockungen bei der gesamten Verdünnungsreihe, ebenso bei Tests mit Normalserum, ja sogar bei Tests mit physiologischer Kochsalzlösung an Stelle des Serums, auftreten. Nach Passage eines Bakterienfilters wird diese Erscheinung bei den Extrakten fast völlig aufgehoben.

Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß diese Bestandteile, die im Bakterienfilter zurückbleiben, unter Umständen gerade besonders inaktivierend wirken können, was allerdings in eigenen Versuchen nicht geprüft wurde. Manil (1949) stellte nämlich fest, daß nach Passage von *Chenopodium*-Extrakten durch Bakterienfilter die inaktivierende Wirksamkeit des Extrakts etwas herabgesetzt wird. Nicht filtrierter Extrakt inaktivierte zugesetztes TMV fast völlig, bakterienfiltierter Extrakt dagegen nur noch zu etwa 65 %.

Zusammenfassend ist zu allen Serumtests mit Blatt- und Laubextrakten festzustellen:

Eine Destruktion des TMV-Moleküls durch irgendeinen Extrakt liegt in keinem Falle vor, denn bei stärkerer Antiserumkonzentration in dem TMV + Extrakt + Antiserum-Gemisch erfolgt stets eine gute Agglutination.

In einigen Fällen verschiebt sich der Verdünnungsendpunkt des Antiserums unter dem Einfluß des Extrakts zur stärkeren Konzentration, in einigen Fällen zur geringeren Konzentration, gelegentlich bleibt er der Kontrolle (ohne Extraktzusatz) gleich.

Der Faktor des Extrakts, der eine Verschiebung des Antiserumverdünnungsendpunktes zur stärkeren oder geringeren Konzentration bewirkt, scheint in Extrakten, die ein Bakterienfilter passiert haben, nicht mehr vorhanden zu sein!

Ein Anhaltspunkt dafür, daß mit der Stärke der inaktivierenden Wirksamkeit der einzelnen Extrakte eine ganz bestimmte Verschiebung des Antiserumverdünnungsendpunktes parallel geht, konnte in den Versuchen nicht festgestellt werden.

III. Beeinflussung des TMV durch Ablaufwasser von Kulturpflanzen und durch Kompost- und Erdextrakte

1. Die inaktivierende Wirksamkeit von Ablaufwassern von in Glaswolle angezogenen Pflanzen gegenüber TMV in Preßsaft

a) Methodik: Die Wurzelausscheidungen oder Wurzelsekrete der Kulturpflanzen wurden in Form von Wurzelablaufwassern gewonnen nach der im Institut für Phytopathologie und Pflanzenschutz der Universität Rostock erprobten und von Hurtig (1953/54) beschriebenen Methode:

„Zur Verwendung kamen 1-Liter-Langhalsstehkolben (Jenaer Glas) und 18-cm-Glastrichter. Die Trichter wurden mit Glaswolle, Quarzsand oder Erde (1/3 Sand, 2/3 Lauberde, pH 6,5) gefüllt und auf die Kolben gesetzt. Jeweils zwei Trichterkolben wurden mit der gleichen Samenart besät. Die Versuchsdurchführung erfolgte im Gewächshaus. Zum Schutz der Wurzeln gegen Sonnenlicht und Algenbildung in den Ablaufwassern wurde um jeden Kolben ein schwarzer Pappmantel gelegt.

Vor dem Einsäen wurden Mais, Erbsen und Zuckerrüben zwei Tage, alle anderen Samen einen Tag lang zur Vorquellung ausgelegt, um damit eine raschere Keimung in den Trichtern zu erzielen. Luzerne wurde wegen ihrer langsameren Anfangsentwicklung eine Woche früher eingesät, mit dem unten beschriebenen Gießwasser aber erst zusammen mit den übrigen Versuchsserien begossen. Bis zum Zeitpunkt, an dem die Pflänzchen den Rand des Trichters erreichten, wurden Glasplatten aufgelegt und auf diese Weise eine feuchte Kammer geschaffen. Die Erde bzw. der Quarzsand oder die Glaswolle wurden vor dem Einbringen in die Trichter so stark durchfeuchtet, daß während des ersten Wachstums nicht gegossen zu werden brauchte. Die Trichter mit Glaswolle und Quarzsand wurden mit Knopscher Nährlösung, die Erdtrichter mit reinem Leitungswasser begossen. Es wurden je Trichter 300 ccm Flüssigkeit gegeben, wenn die Sämlinge an die Glasplatte stießen und diese entfernt werden mußten. Die Flüssigkeit, die durch den Trichter in den Kolben tropfte, wurde wieder zum Gießen benutzt, bis die Keimmedien von den Wurzeln der Versuchspflanzen durchstoßen worden waren. Das dauerte etwa zwei Wochen bei Glaswolle und Sand, 1 1/2 bis 2 Wochen bei Erde. Dabei wurde das Gießwasser auf etwa 2/3 der Anfangsmenge vermindert."

Folgende Mischungen wurden hergestellt:

1 Teil sekrethaltiges Wurzelablaufwasser der in Glaswolle angezogenen Pflanzen,

1 Teil TMV-haltiger Preßsaft,

2 Teile Aqua dest.

Die Mischungen blieben über Nacht stehen und wurden dann nach der im Halbblatt-Test üblichen Methode geprüft.

b) Besprechung der Einzelergebnisse: Ausgetestet wurden die Ablaufwasser der folgenden in Glaswolle angezogenen Pflanzen:

Weizen	Mais	Erbsen
Roggen	Lein	Zuckerrüben
Hafer	Hanf	
Gerste	Luzerne	

Da sich auf den jeweils abgeriebenen acht Testtabakblättern z. T. nur sehr niedrige Läsionszahlen und recht unausgeglichene Werte ergaben, können aus dem Versuch nur bedingte Schlußfolgerungen gezogen werden. Es zeigte sich, daß die geprüften ungepufferten Ablaufwasser keine wesentliche Inaktivierung bewirkten, denn nur Lein-Ablaufwasser wies eine deutliche inaktivierende Wirkung auf. Vier Ablaufwasser, nämlich die von Weizen — Roggen — Erbsen — Zuckerrüben, zeigten eine deutliche stimulierende Wirkung, während die übrigen fünf innerhalb der Abweichung von ± 20 % von der Kontrolle lagen, also das TMV weder inaktivierten noch stimulierten.

Die in einigen Fällen vorliegende Stimulierung wäre wiederum nur durch die Annahme zu erklären, daß durch den Zusatz der betreffenden Ablaufwasser im TMV-Preßsaft evtl. vorhandene Molekülaggregate zu TMV-Einzelmolekülen gespalten werden und sich dadurch die Menge der infektiösen Teilchen wesentlich erhöht.

2. Die inaktivierende Wirksamkeit von Ablaufwassern von in Sand und Erde angezogenen Pflanzen gegenüber TMV in Kochsalzextrakt
(s. Tab. 11 Kontaktzeitversuch)

a) Methodik: Wurzelablaufwasser wurde wie im vorigen Versuch gewonnen und in stärkerer bzw. schwächerer Konzentration mit TMV-Kochsalzextrakt gemischt. Die Abreibung der Mischungen erfolgte ebenso wie im Kontaktzeitversuch mit Mikroorganismenfiltraten in verschiedenen Zeitabständen (Näheres s. Tab. 11) nach der Halbblattmethode. Die Gemische wurden bei + 4° C im Kühlschrank in verschlossenen Reagenzgläsern aufbewahrt.

Außerdem wurden, wie auch in allen übrigen Versuchen, Kontrollabreibungen mit 3 Teilen Wurzelablaufwasser + 1 Teil Aqua dest., also ohne TMV-Zusatz, durchgeführt.

b) Besprechung der Einzelergebnisse hinsichtlich der Höhe der Inaktivierung: Wurzelablaufwasser ohne TMV-Zusatz ergaben in keinem Fall irgendeine Läsionsbildung.

Zur weiteren Auswertung können die Serien A I und B I des Kontaktzeitversuches herangezogen werden, da in diesen Serien ungefähr dieselbe Kontaktzeit wie im vorher geschilderten Versuch vorliegt.

Tabelle 11

Kontaktzeitversuch mit Wurzelablaufwassern unter

Wurzelaublaufwasser (Pflanzen angezogen in:)	pH-Werte von Ablauf-wassern	pH-Werte von A	A Läsionen links : rechts		
			I	II	III
Weizen (Sand)	8,2	8,12	58/70	54/44	40/9
Roggen (Sand)	8,19	7,9	26/21	93/105	30/31
Lein (Sand)	7,99	7,6	37/15	77/105	104/6
Erbsen (Sand)	7,85	7,4	18/21	30/56	74/4
Blind (Sand)	7,5	7,18	13/12	36/28	46/7
Weizen (Erde)	6,8	6,89	50/41	54/44	137/8
Roggen (Erde)	7,0	7,2	57/24	31/36	182/30
Lein (Erde)	7,3	7,21	33/36	67/65	93/11
Senf (Erde)	7,0	7,2	53/31	21/14	52/20
Blind (Erde)	6,94	7,0	34/28	29/20	41/9

I. Testung: gemischt, am selben Tag verimpft
II. Testung: gemischt, etwa 2 Wochen später verimpft
III. Testung: gemischt, etwa 4 Wochen später verimpft

Abreibung auf je 12 Blättern
Mischungsverhältnis:
A: 1 TMV-Kochsalzextrakt + 3 Wurzelablaufwasser
B: 1 TMV-Kochsalzextrakt + 1 Wurzelablaufwasser + 2 Aqua dest.

Bei der Serie A I zeigen nur die Ablaufwasser Lein (Sand), Blind (Sand ohne Pflanzen), Roggen (Erde) und Senf (Erde) eine inaktivierende Wirkung. Weizen (Sand) zeigt eine ganz geringe Stimulierung, alle übrigen liegen innerhalb der ± 20 %-Abweichung von der Kontrolle.

Bei der Serie B I dagegen erfolgt bei allen Ablaufwassern eine Inaktivierung außer bei Blind (Sand), wo eine Stimulierung erfolgt, und Weizen (Erde), wo der Wert innerhalb der ± 20 %-Abweichung liegt.

Ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem pH-Wert der Ablaufwasser und ihrer inaktivierenden Wirksamkeit scheint sowohl in der Serie A als auch in der Serie B nicht vorzuliegen. Denn die gemessenen pH-Werte liegen, mit Ausnahme des Wertes von Weizen (Sand), innerhalb des Bereiches von pH 3 bis 8. Innerhalb dieses pH-Bereiches erfolgt bekanntlich, wie im Abschnitt „pH-Wert und Pufferung als aktivitätsbeeinflussende Faktoren" der kürzlich veröffentlichten Arbeit (BARTELS 1955) ausgeführt wurde, keine wesentliche, nur auf den pH-Wert der Lösung zurückzuführende, Inaktivierung des TMV.

c) Der Einfluß der Ablaufwasserkonzentration auf die Inaktivierung: Ein Vergleich der Serien A I bis III (stärkere Ablaufwasserkonzentration) und B I bis III (geringere Ablaufwasserkonzentration) zeigt folgendes:

Die Ablaufwasser von Roggen, sowohl von Pflanzen, die in Sand als auch von solchen, die in Erde angezogen wurden, weisen in allen drei

Tabelle 11

Verwendung TMV-haltigen Kochsalzextraktes als Virusquelle

Inaktivierung %			pH-Werte von B	B Läsionen links : rechts			Inaktivierung %		
I	II	III		I	II	III	I	II	III
+20,7	18,5	77,5	7,99	89/70	60/117	64/13	21,3	+95,0	79,7
19,2	+12.9	+ 3,3	7,7	50/19	69/59	73/16	62,0	14,5	78,1
59.5	+36,4	94,2	7,5	27/14	59/55	54/10	48,1	6,8	81,5
+16,7	+86,7	94,6	7,1	28/20	34/55	87/5	28,6	+61,8	94,3
7,7	22,2	84,8	7,0	37/53	46/36	16/14	+43,2	21,7	12,5
18,0	18,5	94,2	6,85	36/34	88/45	114/77	5,6	48,9	32,5
57,9	+16,1	83,5	7,0	105/65	49/47	75/1	38,1	4,1	98,7
+ 9.1	3,0	88,2	7,25	49/33	66/58	78/43	32,7	12,1	44,9
41,5	33,3	61,5	7,19	86/60	73/69	55/8	30,2	5,5	85,5
17,6	31,1	78,0	7,2	48/24	126/118	39/26	50,0	6,4	33,3

B-Serien eine stärkere Inaktivierung als in den drei analogen A-Serien auf. Ebenso treten bei Ablaufwasser von Weizen (Sand), Erbsen (Sand) und Lein (Erde) in jeweils zwei der drei B-Serien größere Inaktivierungswerte auf als in den analogen A-Serien.

Im Gegensatz dazu zeigt das Ablaufwasser von Sand (= Blind) in allen drei B-Serien geringere Inaktivierungswerte als in den drei A-Serien. Dieselbe Erscheinung tritt auf bei den Ablaufwassern von Lein (Sand), Weizen (Erde), Senf (Erde) und Erde (= Blind), wo jeweils zwei der drei B-Serien geringere Inaktivierungswerte aufweisen als die analogen A-Serien.

Insgesamt gesehen, erfolgt also bei den fünf erstgenannten Ablaufwassern durch Verdünnung eine Zunahme der inaktivierenden Wirksamkeit, bei den fünf zuletztgenannten dagegen eine Abnahme der inaktivierenden Wirksamkeit gegenüber dem TMV durch Verminderung der Ablaufwasserkonzentration.

d) Vergleich zwischen Ablaufwassern der in Glaswolle angezogenen Pflanzen und den Ablaufwassern der in Sand oder Erde angezogenen Pflanzen: Ein Vergleich der inaktivierenden Wirksamkeit der Ablaufwasser der in Glaswolle angezogenen Pflanzen kann wegen der Konzentrationsverhältnisse der Ablaufwasser nur mit der Serie B I des Kontaktzeitversuchs erfolgen.

Der Vergleich ist allerdings nicht streng exakt, da der erstgenannte Versuch mit TMV-Preßsaft und der letztgenannte mit TMV-Kochsalzextrakt als Virusquelle durchgeführt wurde.

Es wirkten folgende in Sand oder Erde gewonnenen Ablaufwasser stärker inaktivierend bzw. geringer stimulierend als die ihnen entsprechenden in Glaswolle gewonnenen Vergleichsablaufwasser:

Weizen (Sand)
Roggen (Sand)

Lein (Sand)
Erbsen (Sand)
Weizen (Erde)
Roggen (Erde)

Ablaufwasser von Lein (Erde) dagegen wirkte schwächer inaktivierend als von Lein (Glaswolle).

Erstaunlich ist, daß beim Vergleich der Ablaufwasser der in Glaswolle angezogenen Pflanzen mit der Serie A I (starke Ablaufwasserkonzentration aus Sand bzw. Erde) des Kontaktzeitversuchs die Inaktivierungsverhältnisse genau die gleichen sind wie beim Vergleich mit der Serie B I des Kontaktzeitversuchs. Das ist der Fall, obwohl einerseits die Ablaufwasserkonzentration bei der Serie A I bedeutend höher ist und andererseits nach allem bisher Gesagten, die Viruskonzentration, da ja Preßsaft im Versuch mit den Ablaufwassern der in Glaswolle angezogenen Pflanzen verwendet wurde, in den Serien A I und B I bedeutend geringer ist auf Grund der Verwendung von TMV-haltigem Kochsalzextrakt als Virusquelle.

Allgemein ist also festzustellen, daß die Ablaufwasser der in Sand oder Erde angezogenen Pflanzen stärker inaktivierend wirken als die Ablaufwasser der in Glaswolle angezogenen Pflanzen.

e) Einfluß der Kontaktzeit zwischen Ablaufwasser und TMV-haltigem Kochsalzextrakt auf die Inaktivierung des TMV (s. Tab. 11): Analog dem Kontaktzeitversuch mit Mikroorganismenfiltrat war die Klärung der obigen Frage das eigentliche Versuchsziel.

In der Serie A (starke Ablaufwasserkonzentration) zeigen eine kontinuierliche Zunahme der Inaktivierungswerte mit zunehmender Kontaktzeit von I über II nach III:

Weizen (Sand)
Blind (Sand)
Weizen (Erde)
Lein (Erde)
Blind (Erde)

Alle übrigen geprüften Ablaufwasser, sowohl der Serie A (starke Konzentration) als auch sämtliche der Serie B (schwächere Konzentration), zeigen eine gewisse Zunahme der Inaktivierung bzw. Abnahme der Stimulierung von I nach II oder von II nach III. Insgesamt gesehen zeigt die dritte Testung in der Serie A nach vier Wochen Kontaktzeit in neun von zehn Fällen den höchsten Inaktivierungswert, in der Serie B in sieben von zehn Fällen.

Aus allem kann zusammenfassend geschlossen werden, daß ebenso wie bei Mikroorganismenkulturfiltraten auch bei Ablaufwassern von Kulturpflanzen die Kontaktzeit nicht ohne Einfluß auf die Inaktivierung des zugesetzten TMV ist. Es zeigt sich deutlich die Tendenz, daß mit wachsender Kontaktzeit zwischen Ablaufwasser und TMV die sich ergebenden Inaktivierungswerte zunehmen.

3. Der Einfluß der Pufferung auf die inaktivierende Wirksamkeit einiger Ablaufwasser

a) Methodik: Der Versuch ging parallel mit dem Versuch, der im Abschnitt über die inaktivierende Wirksamkeit von Ablaufwassern von in Glaswolle angezogenen Pflanzen gegenüber TMV in Preßsaft besprochen wurde.

Die Gewinnung der Wurzelablaufwasser wurde wie in dem genannten Versuch durchgeführt. Es wurden Mischungen zubereitet aus:

1 Teil Wurzelablaufwasser der in Glaswolle angezogenen Pflanzen,
1 Teil TMV-haltiger Preßsaft,
2 Teilen Aqua dest. bzw. Sörensen-Phosphat-Puffergemisch (pH 7).

Dazu wurden entsprechende gepufferte oder ungepufferte TMV-Kontrollen hergestellt, in denen an Stelle des Wurzelablaufwassers Aqua dest. trat.

Die Mischungen von Wurzelablaufwassern + TMV + Aqua dest. bzw. Puffer wurden dann mit den gepufferten oder ungepufferten Kontrollen nach der Halbblattmethode in folgenden Kombinationen ausgetestet:

I. Serie TMV ungepuffert : TMV + Ablaufwasser ungepuffert
II. Serie TMV gepuffert : TMV + Ablaufwasser gepuffert
III. Serie TMV ungepuffert : TMV + Ablaufwasser gepuffert

b) Ergebnisse: Ebenso wie im Versuch mit ungepufferten Ablaufwassern der in Glaswolle angezogenen Pflanzen waren auch im vorliegenden Versuch die sich ergebenden Läsionszahlen recht gering und die erhaltenen Inaktivierungswerte recht unausgeglichen, so daß man auch in diesem Versuch nur eine allgemeine Tendenz erkennen konnte, die im folgenden ohne Nennung der recht schwankenden Inaktivierungswerte kurz umrissen sein soll.

Beim Vergleich der Serien I und II ergab sich eine Zunahme der Inaktivierung bzw. Abnahme der Stimulierung durch Pufferung in insgesamt sechs Fällen, nämlich bei den Ablaufwassern von:

Roggen	Hanf	Erbsen
Hafer	Luzerne	Zuckerrüben

Bei folgenden vier Ablaufwassern ergab sich eine Abnahme der Inaktivierung bzw. Zunahme der Stimulierung durch Pufferung:

Weizen	Gerste
Lein	Mais

Die Serie III (TMV-ungepuffert: TMV + Ablaufwasser gepuffert) wurde, wie auch bei dem Pufferungsversuch mit Kulturfiltraten von Mikroorganismen, angesetzt in der Hoffnung, daß in dieser Serie gegenüber der Serie II der Einfluß der Pufferung auf die inaktivierende Wirksamkeit des Ablaufwassers besonders kraß in Erscheinung tritt.

Beim Vergleich dieser Serie III mit der Serie I (TMV-ungepuffert: TMV + Ablaufwasser ungepuffert) wurde bei acht von den zehn geprüften Extrakten der dritten Serie die Inaktivierung durch Pufferzusatz verstärkt.

Lediglich Hanf- und Luzerneablaufwasser wirkten bei Pufferzusatz geringer inaktivierend.

Schließlich sei noch der Vergleich zwischen der Serie III (TMV-ungepuffert : TMV + Ablaufwasser gepuffert) und der Serie II (TMV-gepuffert : TMV + Ablaufwasser gepuffert) durchgeführt. Es ergab sich dabei, daß sechs der zehn Ablaufwasser der Serie III höhere Inaktivierungswerte zeigten, während vier (Roggen-Hanf-Luzerne-Erbsen) geringere Inaktivierungswerte bzw., was in derselben Richtung liegt, höhere Stimulierungswerte aufwiesen, wobei in diesen letzten vier Fällen die Läsionszahlen allerdings besonders niedrig waren.

Es kann aus der Tatsache, daß sechs Ablaufwasser in der Serie III eine stärkere Inaktivierung als in der Serie II aufwiesen, geschlossen werden, daß bei diesen Ablaufwassern ein, wenn auch geringer Teil der Inaktivierung auf das Konto der reinen Puffereinwirkung geht. Die beschriebenen Pufferungsversuche mit Kulturfiltraten von Mikroorganismen wiesen in die gleiche Richtung.

Zusammenfassend ist zur Puffereinwirkung auf Ablaufwasser festzustellen, daß in der Mehrzahl der Fälle die inaktivierende Wirksamkeit der Ablaufwasser durch Puffereinfluß deutlich erhöht wurde.

Die Ergebnisse stehen damit im Gegensatz zu der sich in den Pufferungsversuchen mit Mikroorganismen-Kulturfiltraten und Blatt- bzw. Laubextrakten deutlich abzeichnenden Tendenz, daß der Pufferzusatz die inaktivierende Wirksamkeit dieser Substanzen herabsetzte!

4. Serologisches Verhalten des TMV nach Beeinflussung durch Ablaufwasser (s. Tab. 12)

a) Methodik: Fragestellung und Methodik waren völlig die gleichen wie in den schon besprochenen Serumversuchen mit Kulturfiltraten von Mikroorganismen und Blatt- bzw. Laubextrakten.

Zur Verwendung kamen die im Kontaktzeitversuch geprüften Ablaufwasser der in Sand und Erde angezogenen Pflanzen.

b) Ergebnisse: Auf Grund des Tests steht einwandfrei fest, daß durch keins der geprüften Ablaufwasser eine stärkere Schädigung, insbesondere eine Destruktion des TMV-Moleküls hervorgerufen wird, denn bei stärkeren Antiserumkonzentrationen ergibt sich in jedem Falle eine gute Agglutination.

Ein Vergleich des Antiserumverdünnungsendpunktes des Kontrollgemisches mit den TMV + Ablaufwasser + Antiserumverdünnungsgemischen ist allerdings aufschlußreich. In acht Fällen verschiebt sich nämlich der Antiserumsverdünnungsendpunkt unter dem Einfluß der Ablaufwasser zur stärkeren Konzentration, und zwar von 1 : 100, wo bei der Kontrolle noch eine deutliche Agglutination wahrzunehmen ist, auf 1 : 50. Bei Ablaufwasser von Lein (Sand) erfolgte sogar nur noch bei 1 : 5 eine eindeutige Agglutination.

Die Gemische mit Roggen (Sand)- und Senf (Erde)-Ablaufwasser verhalten sich ebenso wie die Kontrolle, eine Beeinflussung der serologischen Reaktion liegt also nicht vor.

Tabelle 12

Verschiebung des Serumverdünnungsendpunktes durch Wurzelablaufwasser

Testung: je 1 Tropfen Wurzelablaufwasser + TMV + Serumverdünnung

Wurzelablaufwasser (Pflanzen angezogen in:)	NS Cäsar konzentr.	NaCl-Lösung 0,85 %	AS Pollux II 1 : 3	1 : 5	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 5000
	allg. leicht unspez.									
Weizen (Sand)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	2 2	– –	– –	– –
Roggen (Sand)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	3 3	0–1 0–1		– –
Lein (Sand)	– –	– –	4 4	4 4	2 2	1 1	– –	– –	– –	– –
Erbsen (Sand)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	1 1	– –	– –	– –
Blind (Sand)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	– –	– –	– –	– –
Weizen (Erde)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	– –	– –	– –	– –
Roggen (Erde)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	– –	– –	– –	– –
Lein (Erde)	– –	– –	4 4	4 4	3 3	3 3	– –	– –	– –	– –
Senf (Erde)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	4 4	3 3	– –	– 0–1	– –
Blind (Erde)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	2 2	– –	– –	– –
0,85%ige NaCl-Lösung (Kontrolle)	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	3 3	1 1	– –	– –

Abkürzungen siehe Tabelle 4!

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß zwar bei stärkerer Antiserumkonzentration in dem TMV + Ablaufwasser + Antiserumverdünnungsgemisch stets eine gute Agglutination erfolgt; der Ablauf der serologischen Reaktion wird aber in den meisten Fällen in der Richtung beeinflußt, daß eine Verschiebung des Antiserumverdünnungsendpunktes zur stärkeren Serumkonzentration festzustellen ist.

5. Die inaktivierende Wirksamkeit einiger Kompostextrakte auf TMV in Preßsaft

a) Methodik: Um auch die direkte Wirkung einiger weniger Erd- bzw. Kompostextrakte gegenüber dem TMV zu prüfen, wurde als Ergänzung zum Ablaufwasserversuch noch der folgende Versuch durchgeführt.

Analog den Versuchen mit Blatt- und Laubextrakten (Kap. C II—1 a) wurden in Deckelschalen zusammengegeben:

10 g lufttrockenen Kompost- bzw. Erdematerials
20 ccm Aqua dest.

Die Deckelschalen blieben über Nacht geschlossen stehen. Am nächsten Morgen wurde das angefeuchtete Material ausgequetscht und der Extrakt in Reagenzgläsern aufgefangen.

Folgende Mischungen wurden dann nach der Halbblattmethode ausgetestet:

A (starke Extraktkonzentration)
3 Teile Extrakt
1 Teil TMV-Preßsaft

B (schwächere Extraktkonzentration)
1 Teil Extrakt
2 Teile Aqua dest.
1 Teil TMV-Preßsaft

Kontrolle auf der linken Seite der Testtabakblätter:
3 Teile Aqua dest.
1 Teil TMV-Preßsaft

b) Ergebnisse: Geprüft wurden folgende Kompost- bzw. Erdextrakte:

Erde (normal)
Erde (gedämpft)
Kompost (normal)
Kompost (gedämpft)
Indore-Kompost (normal)
Indore-Kompost (gedämpft)

Wie in allen übrigen Versuchen wurden auch hier Kontrollabreibungen mit Extrakten ohne jeden TMV-Zusatz auf Testtabak durchgeführt. In keinem der geprüften Fälle zeigte sich irgendeine läsionsähnliche Erscheinung. Zu den TMV + Kompost- bzw. Erdextraktmischungen ist folgendes festzustellen:

Eine deutliche Inaktivierung ergaben in der Serie A nur die Extrakte von Erde (normal) und Kompost (normal). Indore-Kompost (normal = nicht gedämpft) wies eine Stimulierung auf, während das gedämpfte Material von Erde, Kompost und Indore-Kompost innerhalb der Abweichung von ± 20 % lag, also weder inaktivierte noch stimulierte.

In der Serie B (schwächere Extraktkonzentration) zeigen bis auf Erde (normal = nicht gedämpft) alle Extrakte eine deutlich inaktivierende Wirkung gegenüber dem TMV.

Der Vergleich von Serie A mit Serie B wies in vier Fällen eine Zunahme der Inaktivierung bei Abnahme der Extraktkonzentration auf. Lediglich bei den Extrakten von Erde (normal) und Kompost (normal) erfolgt in der Serie B bei der geringeren Extraktkonzentration auch eine geringere Inaktivierung.

Eine Erklärungsmöglichkeit für eine stärkere Inaktivierung des TMV bei Extraktverdünnung, nämlich Zusammenschluß von TMV-Einzelmolekülen zu Molekülaggregaten bei stärkerer Extraktkonzentration und damit Herabsetzung der Zahl der infektiösen TMV-Teilchen im Gemisch, und alle sich daraus ergebenden Konsequenzen wurden bereits im Zusammenhang mit den Versuchen über die inaktivierende Wirksamkeit von Laubextrakten (Kap. C II—1 c) ausführlich erörtert.

Aus dem kleinen Versuch mit den Kompost- und Erdextrakten können aber auf Grund der geringen Läsionszahlen nicht allzu sichere Schlußfolgerungen gezogen werden.

Eine Tatsache ist jedoch einwandfrei festzustellen: Keiner der geprüften Kompost- oder Erdextrakte rief unter den vorliegenden Versuchsbedingungen in stärkerer oder geringerer Konzentration eine völlige Inaktivierung des TMV hervor!

D. Zusammenfassung und Ausblick auf die Frage der Kompostierung TMV-haltigen Pflanzenmaterials

In einer früheren Arbeit (Bartels 1955) wurde bereits ein Überblick gegeben über physikalische, chemische und biologische Faktoren, die auf Viren, insbesondere das Tabakmosaikvirus (TMV) inaktivierend wirken.

Es seien im folgenden diejenigen erwähnt, die bei der Kompostierung TMV-haltigen Pflanzenmaterials Bedeutung haben können.

Das TMV könnte im Kompost im Normalfalle durch Dämpfung inaktiviert werden, denn die bei der Dämpfung üblicherweise erreichten Temperaturen überschreiten die Inaktivierungstemperaturen von TMV im Blattpreßsaft (92 ° C) und Wurzelpreßsaft (84 ° C) wesentlich, allerdings nicht die Temperaturen zwischen 100 ° und 150 ° C, die das TMV in getrockneten Tabakblättern zu überstehen vermag. Eine gewisse Beeinflussung der Infektiosität des TMV kann durch gute Belüftung, lockere Struktur und gute Feuchtigkeit des Kompostmaterials erreicht werden, da durch diese drei

Bedingungen, ebenso wie im Boden, die Mikroorganismentätigkeit gesteigert und damit das TMV bis zu einem gewissen Grade zerstört wird.

Eine stärkere direkte Inaktivierung des TMV durch bestimmte pH-Werte kann im Kompost schwerlich erreicht werden, da zwischen pH 3 und pH 8 eine solche in wesentlichem Ausmaß nicht stattfindet und die Herstellung von Werten von über pH 8, etwa durch starke Kalkung, den Kompostierungsvorgang sicherlich erschweren würde.

Für eine chemische Inaktivierung käme unter allen von den verschiedensten Autoren geprüften Verbindungen bei der Kompostierung wohl nur Kaliauge in Frage, die in 0,1%iger Konzentration bei Versuchen gegenüber TMV-Präparierungen eine völlige Inaktivierung hervorrief, wobei aber u. U. eine zu starke Alkalität im Kompost eintreten könnte, die den Ablauf der Kompostierungsvorgänge erschweren würde.

Eine ganze Reihe von Mikroorganismen wurde von vielen Autoren als stark inaktivierend wirkend festgestellt. Es muß jedoch bezweifelt werden, daß eine einseitige Anreicherung von Mikroorganismen, etwa durch Impfung, im Kompost möglich ist.

Auch eine Anreicherung in der Form, daß von Mikroorganismen befallenes Pflanzenmaterial dem Kompost zugesetzt wird, spielt nur eine geringe Rolle. Dieses kann nämlich nur in den Fällen geschehen, in denen eine Kompostübertragung der mikrobiellen Krankheitserreger ausgeschlossen ist.

Es scheidet also aus dem genannten Grunde vorläufig eine ganze Reihe von bakteriellen und pilzlichen Pflanzenkrankheitserregern aus, obwohl im landwirtschaftlichen oder Gärtnereibetrieb von ihnen befallenes Pflanzenmaterial in bestimmten Jahren in großer Menge anfällt.

Dieses von Krankheitserregern befallene Pflanzenmaterial könnte aber evtl. kompostiert werden, wenn Kompostierungsverfahren entwickelt würden, in denen eine Abtötung der Erreger erfolgt.

Lediglich hinsichtlich der beiden inaktivierend wirkenden Ascomyzeten *Venturia inaequalis* (Apfelschorf) und *Sclerotinia fructigena* (*Monilia*-Fruchtfäule an Kern- und Steinobst) bestehen aus phytosanitären Gründen keine Bedenken, sie in Form von befallenen Blättern oder Früchten dem Kompost als Inaktivatoren zuzusetzen.

Eine ganze Reihe von Basidiomyzeten könnten aber als Kompostzusätze verwendet werden, wenn auch die Massen, die als Abfälle eßbarer Pilze oder besonders gesammelte Mengen von ungenießbaren oder giftigen Pilzen anfallen, recht gering sind. Es kämen da z. B. in Frage als Inaktivatoren: *Armillaria mellea* (Hallimasch), *Amanita phalloides* (Knollenblätterpilz), *Amanita muscaria* (Fliegenpilz), außerdem noch *Coprinus*-Arten (Tintlinge), *Polyporus*-Arten (Porlinge), *Lycoperdon*-Arten (Boviste), *Entyloma*-Arten (Rötlinge), *Collybia*-Arten (Rüblinge), *Boletus*-Arten (Röhrlinge), *Lepiota*-Arten (Schirmlinge).

Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß die inaktivierende Wirksamkeit durch bestimmte Ernährungs- und Standortverhältnisse in nega-

tivem Sinne beeinflußt zu werden scheint, ebenso durch das Vorhandensein weniger inaktivierender Biotypen.

Gute Aussichten zur Verwendung als inaktivierende Kompostzusätze bieten aber eine ganze Reihe von Pflanzenarten, von denen auch vielfach eine genügende Menge leicht zu beschaffen ist.

In Frage kommen auf Grund ihrer guten Wirksamkeit in Laborversuchen nach den Literaturangaben die Blätter von

Spinat	Gutem Heinrich	Erdbeeren
Mangold	*(Chenopodium bonus henricus)*	Himbeeren
Futterrüben	Weißem Gänsefuß	Pelargonien
Zuckerrüben	*(Chenopodium album)*	Tabak (mazeriert)
Roten Rüben	Nelken	Gurken
		Sonnenblumen.

Außerdem könnten verwendet werden die Wurzeln von Tabak und Gurken und in der Nähe von Markthallen und Marmeladenfabriken u. U. Abfälle von Zitronenfrüchten.

In den eigenen Untersuchungen sollte nun geprüft werden:

a) Wie sich Sekrete und Extrakte bestimmter Mikroorganismen und höherer Pflanzen hinsichtlich ihrer inaktivierenden Wirksamkeit gegenüber dem TMV verhalten;

b) wie sich die Konzentration der in den Substanzen enthaltenen Hemmstoffe auswirkt;

c) welchen Einfluß die Kontaktzeit zwischen Hemmstoff und TMV auf die Höhe der erreichten Inaktivierung hat;

d) wie sich die Pufferung der geprüften Substanzen auswirkt;

e) ob die Inaktivierung reversibel ist;

f) wie sich das durch die verschiedensten Substanzen inaktivierte TMV serologisch verhält.

Von allen geprüften Mikroorganismen seien nur solche genannt, die im günstigsten Falle eine über 90%ige Inaktivierung des TMV bewirkten:

Fusarium oxysporum (Erreger von Welkekrankheiten und verschiedenen Pflanzenfäulen),

Trichothecium roseum (Schimmelpilz, zum Teil auch parasitär an keimenden Leguminosen und Gramineen, Bitterfäulerreger an Kern- und Steinobstfrüchten),

Thielavia basicola (Wurzelbräuneerreger an Leguminosen u. a.),

Sclerotinia fructigena (*Monilia*-Fruchtfäule an Kern- und Steinobst).

Wegen der Gefahr der Kompostübertragung der Krankheitserreger käme als besonders inaktivierender Kompostzusatz wohl nur *Sclerotinia* (*Monilia*) *fructigena* in Frage. Die drei anderen Mikroorganismen könnten erst dann zur Verwendung kommen, wenn, wie vorher schon erwähnt, Kompostierungsmethoden entwickelt würden, bei denen die Krankheitserreger abgetötet werden.

Hinsichtlich der inaktivierenden Wirksamkeit von Mikroorganismen konnten folgende allgemeine Feststellungen gemacht werden, die für die Kompostierung TMV-haltigen Pflanzenmaterials von Bedeutung sein können:

1. Je kleiner die TMV-Menge, um so größer ist der relative Hemmstoffbedarf, wenn eine merkliche Inaktivierung erreicht werden soll. Für die Kompostierung TMV-haltigen Pflanzenmaterials bedeutet das, daß eine große TMV-Menge durch Zusatz entsprechender inaktivierender mikrobieller Substanzen (und evtl. auch durch eine rege mikrobielle Tätigkeit der bei der Kompostierung wirkenden Bakterien und Pilze) anfangs zwar zu einem großen Teil inaktiviert werden kann; je kleiner aber die verbleibende, noch infektiöse TMV-Menge wird, um so schwieriger wird es, diese kleine Menge zu zerstören.

2. Größere Hemmstoffkonzentrationen wirken meistens besser auf das TMV als geringere Konzentrationen, jedoch nicht immer, da bei besonders starker Hemmstoffkonzentration gelegentlich eine geringere Inaktivierung beobachtet wurde, die evtl. auf die Bildung von TMV-Molekülaggregaten aus Einzelmolekülen zurückzuführen ist, wodurch sich die Zahl der infektiösen Teilchen verringert.
   Daraus ergibt sich: Kleine TMV-Menge → relativ größerer Hemmstoffbedarf = geringerer Inaktivierungswert.

3. Bei zunehmender Kontaktzeit (= Einwirkungszeit) zwischen Mikroorganismen und TMV ergeben sich zunehmende Inaktivierungswerte, insbesondere bei direkter Berührung zwischen entstehendem Hemmstoff und TMV.
   Folgerung für die Kompostierung: möglichst lange Kompostierungszeit.

4. Nach den Ergebnissen des Pufferungsversuchs setzt zu hohe Alkalität die inaktivierende Wirksamkeit der Mikroorganismen herab. Außerdem scheint eine, wenn auch geringe, direkte Inaktivierung des TMV durch die Pufferung oder Alkalität vorzuliegen. Auf die Kompostierung übertragen heißt das: nicht zu stark kalken.

5. Durch die Mikroorganismenwirkstoffe wird bei kurzer Kontaktzeit keine Destruktion des TMV-Moleküls hervorgerufen. Es ist nämlich noch serologisch aktiv, wenn auch nicht mehr völlig, was daraus hervorgeht, daß nach Beeinflussung des TMV durch Mikroorganismenhemmstoffe sich der Antiserumverdünnungsendpunkt zur stärkeren Serumkonzentration hin verschiebt.

Aus den Versuchen mit Extrakten grüner Blätter und vergilbenden Laubs lassen sich für die Kompostierung TMV-haltigen Pflanzenmaterials folgende Schlußfolgerungen ziehen:

Von rund 80 geprüften Blatt- und Laubarten wirkten über $^2/_3$ mehr als 50%ig inaktivierend auf das TMV in Kochsalzextrakt oder Preßsaft. Es

seien nur die besonders wirksamen Inaktivatoren angeführt. Völlig inaktivierend wirkten in stärkerer Extraktkonzentration:

Johannisbeerblätter Petersilienblätter.

Weiterhin besonders stark, d. h. über 90%ig inaktivierend bei stärkerer Extraktkonzentration waren:

Lindenlaub
Kreuzkrautblätter
Serradellablätter
Beifußblätter
Gänsefußblätter
(= „Melde", *Chenopodium album*)
Zuckerrübenblätter
Tomatenblätter
Sellerieblätter
Rotkohlblätter
Kirschlaub
Kirschenhexenbesenblätter
Apfellaub
Spitzahornblätter.

Alle diese genannten Materialien kämen als Kompostzusätze in Frage, insbesondere da sie im landwirtschaftlichen oder gärtnerischen Betrieb vorhanden oder leicht zu beschaffen sind.

Analog den Versuchen mit stärker konzentrierten Laubextrakten müßten das vergilbende Laub und die grünen Blätter dieser besonders inaktivierend wirkenden Pflanzenarten im Kompost mit dem TMV-haltigen Pflanzenmaterial so angesetzt und gut vermischt werden, daß gewichtsmäßig auf 1 Teil frisches TMV-haltiges Pflanzenmaterial mindestens kommen:

1 Teil trockenes Laub
2 Teile Wasser
bzw. 3 Teile grüne Blätter,
dazu wenig Wasser, soweit notwendig zur Anfeuchtung.

Bei Verwendung feuchten Laubes wäre natürlich entsprechend mehr Laub und weniger Wasser zu verwenden. Ebenso wäre bei Verarbeitung von sehr trockenem und verdorrtem TMV-haltigen Pflanzenmaterial (z. B. Tabak- oder Tomatenstrünke) der Anteil dieses TMV-Materials an der Kompostzusammensetzung entsprechend zu senken.

Bestimmte Pflanzenfamilien, deren Angehörige besonders wirksame Inaktivatoren sind, ließen sich, mit Ausnahme der *Chenopodiaceae,* nicht mit Bestimmtheit herausstellen, da das Versuchsmaterial für die Beantwortung dieser Frage nicht reichhaltig genug war.

Darüber hinaus lassen sich aus den Versuchen mit Blatt- und Laubextrakten folgende allgemeine Feststellungen, insbesondere im Zusammenhang mit der Kompostierung, treffen:

1. Bei stark inaktivierenden Extrakten erfolgt in der Regel mit der Verringerung der Extraktkonzentration (= Hemmstoffkonzentration) eine Verringerung der Inaktivierung, wie das auch bei den Mikroorganismenhemmstoffen der Fall ist.

   Als Kompostzusätze müssen deshalb möglichst große Mengen der Blatt- bzw. Laubarten verwendet werden.

2. Bei relativ kurzfristiger Aufbewahrung — 6 Wochen — in verschiedenen sich zersetzenden Blatt- bzw. Laubmassen, erfolgte in keinem Falle eine völlige Inaktivierung des TMV in dem zugesetzten Tabakblattmaterial.
   Also: Lange Kompostierungszeiten, analog den Ergebnissen mit Mikroorganismen!
3. Die Pufferungsversuche haben gezeigt, daß Alkalität die inaktivierende Wirksamkeit der Blatt- und Laubextrakte in der Mehrzahl aller geprüften Fälle herabsetzte.
   Es ergibt sich daraus, ebenso wie in den Mikroorganismenversuchen, daß der Kompost nicht zu stark gekalkt werden darf.
4. Die Inaktivierung des TMV durch einige besonders inaktivierend wirkende Blatt- und Laubextrakte erwies sich in bestimmtem Ausmaß als reversibel, eine starke Schädigung des TMV-Moleküls liegt also nicht vor.
5. Auch mit der serologischen Reaktion ließ sich nachweisen, daß eine Destruktion des TMV-Moleküls nicht vorliegt. Das inaktivierte TMV erwies sich als serologisch aktiv, wenn auch die serologische Reaktionsfähigkeit in einigen Fällen etwas verändert war, indem sich der Antiserumverdünnungsendpunkt zur stärkeren Serumverdünnung verschob. Der Faktor, der diese Erscheinung bedingte, ließ sich aber aus dem Extrakt durch Passage eines Bakterienfilters entfernen.
   Für die Kompostierung kann das bedeuten, daß eine völlige Vernichtung des TMV im Kompost nicht immer möglich ist, da die durch die Extrakte bedingte Inaktivierung des TMV reversibel ist und somit das TMV einen Teil seiner früheren Infektionsfähigkeit zurückgewinnen könnte.

In Versuchen mit sekrethaltigen Wurzelablaufwassern von in Glaswolle, Erde oder Sand angezogenen Pflanzen erwiesen sich nach längerer Kontaktzeit zwischen Ablaufwasser und TMV die folgenden Pflanzenarten besonders inaktivierend (über 90%ige Inaktivierung des TMV):

Bei stärkerer Ablaufwasserkonzentration

Lein (in Sand angezogen)
Erbsen (in Sand angezogen)
Weizen (in Erde angezogen).

Bei schwächerer Ablaufwasserkonzentration

Erbsen (in Sand angezogen)
Roggen (in Erde angezogen).

Es wäre evtl. daran zu denken, diese Pflanzen als Deckfrüchte für TMV-haltigen Kompost zu verwenden. Dabei ist aber zu bedenken, daß wegen des oftmaligen Umsetzens der Komposthaufen die Ansaat von Deckfrüchten nur schwierig durchzuführen ist. Aus dem gleichen Grunde kann sich die Durchwurzelung und damit die Wirksamkeit der Wurzelsekrete nur auf die äußeren Partien des Komposthaufens auswirken.

Außerdem ergeben sich aus den Versuchen mit Wurzelablaufwassern folgende allgemeine Hinweise:

1. Die Wirkung der Verringerung der Ablaufwasserkonzentration auf die Höhe der Inaktivierung des TMV war bei den vergleichsweise geprüften Konzentrationen nicht eindeutig festzustellen, da sich im Vergleich mit stärkeren Ablaufwasserkonzentrationen sowohl stärkere als auch schwächere Inaktivierungswerte bei Verwendung von Ablaufwasserverdünnungen ergaben.
2. Eine inaktivierende Wirkung der Ablaufwasser trat nur nach längerer Kontaktzeit (= Einwirkungszeit) zwischen TMV und Ablaufwasser auf; bei kürzerer Kontaktzeit wurde die Infektiosität des TMV sogar z. T. stimuliert, was u. U. auf die Spaltung der in der TMV-Präparierung enthaltenen TMV-Molekülaggregate zu Einzelmolekülen zurückgeführt werden könnte.
3. In Glaswolle angezogene Pflanzen scheinen viel geringere Hemmstoffmengen zu bilden als solche, die in Sand oder Erde angezogen wurden. Sicherlich hängt das mit einer geringeren Ausbildung an Wurzelmasse und auch mit dem Fehlen einer bestimmten Mikroflora in der Rhizosphäre bei den in Glaswolle gezogenen Pflanzen zusammen.
4. Eine Festlegung des pH-Wertes durch Pufferung im alkalischen Bereich erhöhte die inaktivierende Wirksamkeit der Ablaufwasser, ganz im Gegensatz zu den Versuchen mit Mikroorganismen und Blatt- bzw. Laubarten. Außerdem ergibt sich auch in diesem Versuch ein Hinweis dafür, daß die Pufferung direkt auf das TMV etwas inaktivierend wirkt.

   Im Hinblick auf die Wurzelsekretwirkung eventueller Deckfrüchte wäre also eine starke Kalkung des Komposts zu empfehlen, allerdings wird man wohl, da die inaktivierende Wirksamkeit der geprüften Mikroorganismen und Blatt- bzw. Laubarten durch alkalische Pufferung herabgesetzt wird, weniger kalken, da ja die zuletzt genannten Substanzen sicherere Inaktivatoren sind als die Sekrete der geprüften Wurzelablaufwasser.
5. Eine stärkere Schädigung, insbesondere eine Destruktion des TMV-Moleküls nach relativ kurzfristigem Ablaufwassereinfluß liegt in keinem Falle vor, da das inaktivierte TMV noch serologisch aktiv ist. Allerdings hat es nicht mehr die volle Aktivität, denn in den meisten Fällen verschiebt sich nach Beeinflussung des TMV durch Ablaufwasser der Antiserumsverdünnungsendpunkt zur stärkeren Serumkonzentration hin.

Bei der Prüfung von nur sechs Kompost- und Erdextraktproben bewirkten Erde, Kompost und Indore-Kompost, sowohl in gedämpftem als auch in ungedämpftem Zustande bei der kurzen Kontaktzeit in keinem Falle eine völlige Inaktivierung des TMV.

Den höchsten Inaktivierungswert erreichte Kompost (ungedämpft)-Extrakt in stärkerer Konzentration mit nur 65,3 % Inaktivierung. Hemm-

stoffe mit besonders inaktivierender Wirksamkeit scheinen also in keinem der geprüften Kompost- bzw. Erdextrakte vorhanden zu sein. Sie scheinen also auch bei der Kompostierung nicht wesentlich zu wirken.

Es ist deshalb notwendig, unter Berücksichtigung der beschriebenen, gegenüber dem TMV besonders inaktivierend wirkenden Substanzen und unter Berücksichtigung der aufgezeigten Gesichtspunkte Komposte mit bestimmter Zusammensetzung anzusetzen.

Es ist dann damit zu rechnen, daß bei sachgemäßer Kompostierung und guter Zerkleinerung des TMV-haltigen Materials, wobei auch durch das Zerkleinern so etwas wie eine „Selbstinaktivierung" des Materials stattfindet, ein großer Nutzeffekt, d. h. eine weitgehende Herabsetzung der Infektiosität des TMV zu erzielen ist.

Es ist jedoch anzunehmen, daß immer noch eine gewisse Menge an aktivem TMV zurückbleibt, zumal auch der bei 92° C für Blatt- und bei 84° C für Wurzelextrakte liegende thermale Inaktivierungspunkt des TMV durch die bei der Kompostvergärung einsetzende Wärmeentwicklung nicht erreicht wird.

Nach den bisherigen Ergebnissen der Laborversuche kann deshalb offenbar vorläufig nicht darauf verzichtet werden, den mit TMV-haltigem Material durchsetzten Kompost, insbesondere den, der später in die Anzuchterde für Solanaceen eingemischt wird, zu dämpfen.

Im Normalfalle wird man durch diese Dämpfung das TMV im Kompost zerstören.

Unter bestimmten Umständen kann diese aber nicht die Gewähr bieten, daß das TMV völlig inaktiviert wird.

Das TMV kann nämlich in getrockneten Tabakblättern Temperaturen von 100 bis 150° C überstehen, das sind Temperaturen, die bei der Dämpfung nicht erreicht werden. Es besteht so die Möglichkeit, daß in trockenen Partien, vor allem Randpartien des Kompostmaterials, insbesondere bei der Kompostierung von ausgedorrtem, verseuchten Tabak- und Tomatenmaterial, das TMV durch die Dämpfung unter Umständen nicht völlig vernichtet wird.

Unter Berücksichtigung des oben Angeführten und in Anbetracht der Tatsache, daß es wünschenswert wäre, auch im Normalfalle auf eine Dämpfung verzichten zu können, müßten weitere unmittelbare Kompostierungsversuche mit TMV-haltigem Material durchgeführt werden, wobei zu prüfen wäre, in welchem Grade bei bestimmten, nach den aufgezeigten Gesichtspunkten durchzuführenden Kompostzusammensetzungen und Kompostierungsverfahren eine Inaktivierung des TMV erfolgt, insbesondere im Hinblick darauf, ob nicht bei sehr langer Kontaktzeit eine völlige Destruktion des TMV-Moleküls erreicht werden kann.

Herrn Prof. Dr. E. REINMUTH sei an dieser Stelle Dank gesagt für das der Arbeit entgegengebrachte Interesse und die große Freizügigkeit, die bei der Durchführung der Untersuchungen gewährt wurde.

Literaturverzeichnis

1. Bartels, R., 1954: Serologische Untersuchungen über das Verhalten des Kartoffel-A-Virus in Tabakpflanzen. Phytopath. Z. **21**, 395—406.
2. Bartels, W., 1955: Der gegenwärtige Stand der Forschung auf dem Gebiet der Inaktivierung pflanzenpathogener Viren, insbesondere des Tabakmosaikvirus. Phytopath. Z. **24**, 117—178.
3. Bawden, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass., USA. 3. Aufl.
4. Bercks, R., 1949: Serologische Beiträge zur Frage der Abwehr von Zweitinfektionen bei X-Viren. Phytopath. Z. **15**, 54—61.
5. — —, 1950: Die Bedeutung der Serologie für Erforschung und Bekämpfung der Kartoffelviren. Nachr.bl. Dtsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) **2**, 6—8.
6. Goldin, M. I., 1938: I. Tobacco-mosaic virus as influenced by microorganisms. II. Adsorption of tobacco-mosaic by microorganisms. C. R. Acad. Sci. de l'URSS (Doklady) **20**, 735—739 u. 739—740.
7. Grant, T., 1934: The host range and behavior of the ordinary tobacco mosaic virus. Phytopathology **24**, 311—336.
8. Gupta, B. M. and Price, W. C., 1950: Production of plantvirus inhibitors by fungi. Phytopathology **40**, 642—652.
9. — — and — —, 1952: Mechanism of inhibition of plant virus infection by fungal growth products. Phytopathology **42**, 45—51.
10. Habs, H., 1954: Bakteriologisches Taschenbuch, **36.** Aufl. Johann-Ambrosius-Barth-Verlag, Leipzig.
11. Hurtig, I., 1952/53: Über die allelopathische Beeinflussung der Keimfähigkeit und Triebkraft von Samen verschiedener Kulturpflanzen und Unkräuter. Wiss. Z. Univ. Rostock, Math.-Nat.-Reihe **2**, 145—157.
12. Johnson, J., 1941: Chemical inactivation and the reactivation of a plant virus. Phytopathology **31**, 679—701.
13. — — and Hoggan, I. A., 1937: The inactivation of the ordinary tobacco-mosaic virus by microorganisms. Phytopathology **27**, 1014—1027.
14. — — and Ogden, W. B., 1929: The overwintering of the tobacco mosaic virus. Wisconsin Agricult. Exp. Stat. Res. Bull. 95, 25 S.
15. Klinkowski, M., 1954: Die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch pilzliche Stoffwechselprodukte. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- und Forstwirtsch. Berlin-Dahlem, H. 80, 162—168.
16. Van Koot, Y., Van Slogteren, D. H. M., Cremer, M. C. and Camfferman, J., 1954: Virusverschijnselen in Freesias. T. Plantenziekten **60**, 157—192.
17. Kuntz, J. E. and Walker, J. C., 1947: Virusinhibitions by extracts of spinach. Phytopathology **37**, 561—579.
18. Manil, P., 1949: Inhibition de virus phytopathogènes par des extraits de plantes. C. R. Soc. Biol., Paris, **143**, 101—105.
19. — —, 1949: Observations sur les conditions de l'inhibition de virus par des extraits végétaux. C. R. Soc. Biol., Paris, **143**, 105—108.
20. Pfankuch, E. und Kausche, G. A., 1938: Über Darstellung, Eigenschaften und quantitative Bestimmung von Tabakmosaikvirus und Kartoffel-X-Virus und ihre physiko-chemische Differenzierung. Bioch. Z. **298**, 334—345.
21. Sigurgeirsson, T. and Stanley, W. M., 1947: Electron microscope studies on tobacco-mosaic virus. Phytopathology **37**, 26—38.
22. Sill, W. H. and Walker, J. C., 1952: A virus inhibitor in cucumber in relation to mosaic resistance. Phytopathology **42**, 349—352.

23. Stapp, C., 1943: Über serologische Virusforschung und den diagnostischen Wert serologischer Methoden zum Nachweis der pflanzlichen, insbesondere der am Kartoffelabbau beteiligten Viren. J. Landwirtsch. **89**, 161—188.

24. — —, 1950: Der Nachweis von Viruskrankheiten der Kartoffel auf serologischem Wege. Die Kartoffelwirtschaft, **3**, 154—155.

25. — — und Bartels, R., 1952: Untersuchungen über den Nachweis des X-Virus in Kartoffeldunkelkeimen. Züchter **22**, 298—303.

26. Utech, U. M. and Johnson, J., 1950: The inactivation of plant viruses by substances obtained from bacteria and fungi. Phytopathology **40**, 247—265.

*) 27. Van der Want, J. P. H., 1951: Onderzoekingen over anjermozaiek II. T. Plantenziekten **57**, 72—74.

28. Went, J. G., 1937: The influence of various chemicals on the inactivation of tobacco virus 1. Phytopath. Z. **10**, 481—489.

29. Winter, A. G. und Willeke, L., 1952: Untersuchungen über Antibiotica aus höheren Pflanzen. IV. Mitt. Hemmstoffe im herbstlichen Laub. Naturwissenschaften **39**, 45—46.

*) Arbeit wurde nur im Referat eingesehen.

Aus dem Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz
der Georg-August-Universität zu Göttingen
Direktor: Prof. Dr. W. H. Fuchs

Versuche zur stoffwechselphysiologischen Beeinflussung der Reaktion der Kartoffelknolle auf *Phytophthora infestans* de By.

Von

Eva Christiansen-Weniger, geb. Kotte

Inhalt: A. Einleitung. — B. Material und Methodik. — C. Versuchsergebnisse: I. Verträglichkeit der geprüften Stoffe mit dem Kartoffelgewebe; II. Versuche zur Beeinflussung des Polyphenoloxydasesystems; a) Hemmung, aa) Spezifische Kupferinhibitoren, bb) Unspezifische Oxydationsfermenthemmstoffe, b) Wirkung der Fermentsubstrate, aa) Hemmende Sustrate, bb) Fördernde Substrate; III. Versuche zur Beeinflussung der Glykolyse und des Tricarbonsäurekreislaufs; a) Eingriffe in die Glykolyse, b) Hemmung des Tricarbonsäurekreislaufs, c) Förderung des Tricarbonsäurekreislaufs durch Substratzugabe. — D. Diskussion. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

A. Einleitung

Die Erforschung des fein abgestimmten Wechselspieles zwischen verschiedenen Genotypen eines Wirtes mit den spezialisierten Rassen eines Parasiten ist eines der zentralen Probleme der Pflanzenpathologie. Wir wissen, daß diese gegenseitige Abstimmung um so feiner ist, je mehr der Schmarotzer dem parasitischen Leben angepaßt ist. Wir kennen die unterschiedliche Abfolge der äußeren und inneren, morphologischen und histologischen Symptome zwischen kongenialen und nichtkongenialen Partnerpaaren und können aus diesen Befunden Hypothesen über die Ursachen von „Anfälligkeit" und „Resistenz" der Wirtspflanzen aufbauen. Unsere Kenntnisse über die physiologischen, insbesondere stoffwechselphysiologischen Vorgänge, welche den unterschiedlichen Verlauf der parasitären Symbiose bestimmen, sind trotz zahlreicher Arbeiten noch unvollständig. Zusammenfassende Darstellungen geben Gäumann (18), Allen (2) und Rubin und Arzichowskaja (37). Vergleichende Untersuchungen über den Gehalt an bestimmten stoffwechsel-physiologisch wichtigen Stoffgruppen an resistenten und anfälligen Wirtspflanzen vor und nach der Infektion geben interessante Hinweise, ebenso vergleichende Untersuchungen der Umweltabhängigkeit des Stoffwechsels und des Verlaufs der parasitären Symbiose. Die Auswertung solcher Ergebnisse scheitert jedoch an der Tatsache, daß sich die verschiedenen Rassen auf

den einzelnen Sorten unterschiedlich verhalten. Über die Ursachen dieser Spezialisierung können wir heute noch nicht einmal gut unterbaute Hypothesen aufstellen. Wir können nur auf Grund sehr vorsichtiger Analogieschlüsse vermuten, daß die spezifische Reaktionsweise eines Wirtes mit einer bestimmten Parasitenrasse dadurch zustande kommt, daß der intermediäre Stoffwechsel an einer jeweils spezifischen Stelle gestört wird. Wenn diese Annahme zutrifft, muß eine Untersuchung des intermediären Stoffwechsels unser Wissen um die Resistenzprobleme vermehren. Grundsätzlich stehen für derartige Arbeiten zwei verschiedene Wege offen: 1. Die analytische Untersuchung des Intermediärstoffwechsels gesunder und infizierter Pflanzen, 2. der Versuch spezifischer Beeinflussung des Intermediärstoffwechsels durch Zuführung von spezifischen Fermentgiften und spezifischen Fermentsubstraten. Die vorliegenden Untersuchungen beschreiten aus bestimmten, hier nicht näher zu erörternden Gründen nur den zweiten Weg, in der klaren Erkenntnis, daß hierdurch nur ein Teilbeitrag zu den angeschnittenen Problemen geliefert werden kann (vgl. 17).

Als Untersuchungsobjekt wurde die Kartoffelknolle unter dem Einfluß von *Phytophthora infestans* aus folgenden Gründen gewählt: 1. Weil die Stoffwechselvorgänge nicht assimilierender, chlorophyllfreier Organe leichter überschaubar sind als die grüner Sproßteile, bei welchen in allen Fällen damit gerechnet werden muß, daß Beeinflussungen der Photosynthese die Beobachtungen komplizieren, 2. weil die Durchführung von Infektionsversuchen an solchen Organen durch die Unabhängigkeit vom Licht erleichtert wird, 3. weil die Bereitstellung von ausreichendem, genetisch einheitlichem Versuchsmaterial auf keine Schwierigkeiten stößt und vor allem 4., weil auf Grund der Arbeiten von K. O. MÜLLER und seinen Mitarbeitern (27 bis 30) der Verlauf der Infektion von *Phytophthora infestans* auf resistenten und anfälligen Kartoffelknollen weitgehend geklärt und die Möglichkeit narkotischer Beeinflussung dieser Reaktion durch BEHR (5) nachgewiesen ist. Hinzu kommt, daß von anderer Seite (19, 21) über die Zusammenhänge zwischen Resistenz und Fermentaktivität gerade an diesem Objekt gearbeitet wurde und daß eine größere Zahl biochemischer Arbeiten über die Wirkungen von Fermentgiften an der Kartoffel durchgeführt wurden.

Über das Verhalten von *Phytophthora infestans* in Knollen resistenter und „anfälliger" Kartoffelsorten nach Infektion auf frischen Schnittflächen ist folgendes bekannt: Auf anfälligen Sorten dringt der Pilz in die obersten Zellagen ein und breitet sich auch verhältnismäßig rasch in den tieferen Zellschichten aus. Die Wirtspflanze antwortet auf den Infekt durch allmählich sich steigernde nekrobiotische Reaktionen; diese führen jedoch so spät zu Nekrosen, daß der Pilz einerseits neue, tiefere Gewebsschichten angreifen und andererseits auf der Schnittfläche reichlich fruktifizieren kann. In den bereits nekrotisierenden Geweben kann dagegen *Phytophthora* nicht weiter wachsen und vor allem nicht fruktifizieren (27). In resistenten Sorten erfolgt Infektion und Nekrotisierungsreaktion in gleicher Weise, nur werden hier Nekrosen so frühzeitig ausgebildet, daß der Pilz in den obersten Zell-

lagen abstirbt, ohne zur Fruktifikation zu gelangen; die Reaktion erhält hyperergischen Charakter.

Da andere mögliche „Abwehrreaktionen" des Wirtes an diesem Prozeß offensichtlich nur sehr geringen Anteil haben (18), hängt der Resistenzgrad nur von dem Verhältnis der Reaktionsgeschwindigkeit des Wirtes zu der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Parasiten ab. Eingriffe, welche dieses Geschwindigkeitsverhältnis verändern, verschieben den Resistenzgrad, wie z. B. die Temperatur (31) und vor allem partielle Narkose (5).

Der in den nekrotisierten Geweben enstehenden „braunen Substanz" werden fungistatische bzw. fungitoxische Eigenschaften zugeschrieben (27). Die histochemische Untersuchung gibt einige Hinweise dafür, daß es sich um gerbstoffähnliche Verbindungen handeln könnte, welche durch übersteigerte Oxydationsvorgänge aus Phenolkörpern entstehen (27). Hierdurch gewinnen diese Untersuchungen Anschluß an ältere Arbeiten. Newton und Andersen (32) brachten z. B. 1929 den Resistenzgrad der Wirtspflanze gegen Rostpilze mit ihrem Phenol- und Gerbstoffgehalt in Zusammenhang. Dufrénoy (13) zeigte, daß sich solche Stoffe nach Infektion in sehr vielen Pflanzen bilden, daß sie aber in den Geweben resistenter Pflanzen rascher und in größerer Menge ausgebildet werden als in den Geweben anfälliger. Rubin und Mitarbeiter (37) machten 1947 ähnliche Reaktionen für das Kartoffellaub nach Infektion mit *Phytophthora* wahrscheinlich. Szent-Györgyi und Mitarbeiter (42, 43, 6) betonten bereits 1939, daß Brenzcatechin, als einer der verbreitetsten Ausgangsstoffe für oxydative Veränderungen von Phenolen, ein allgemein wirksamer Resistenzfaktor sein könnte.

Die Bedeutung abnormaler Oxydationsprodukte, besonders oxydierter Phenolkörper, bildet in den letzten Jahrzehnten die Grundlage für die meistdiskutierte Hypothese pflanzlicher Resistenz gegen Infekte. Zu ihrer weiteren Stützung wurde vor allem von russischen Forschern der Gehalt der Pflanzen an oxydierenden Fermenten vor und nach der Infektion studiert, wobei neben der besonders interessierenden Phenoloxydase auch der Peroxydase und Katalase Beachtung geschenkt wurde (Zusammenfassung bei 37).

Auf Grund dieser Befunde war es selbstverständlich, daß unsere Untersuchungen in erster Linie auf eine Beeinflussung des oxydativen Stoffwechsels der Kartoffelknolle, insbesondere der Phenoloxydase, abzielten. Ehe wir auf die Versuchsanlage eingehen, müssen daher unsere heutigen Kenntnisse über den oxydativen Stoffwechsel der Kartoffelknolle kurz umrissen werden.

Auch für die höhere Pflanze ist nachgewiesen, daß die Veratmung von Kohlenhydraten zumindest zu einem Teil derart verläuft, daß zuerst Hexosen über verschiedene Zwischenstufen in Brenztraubensäure umgewandelt wird und diese dann in den sogenannten Tricarbonsäurezyklus eingeht (8). Auf die Möglichkeiten andersartiger, glykolytischer Vorgänge und anderer Wege zur Umsetzung der Brenztraubensäure sei hier nicht eingegangen, da sie für die vorgelegten Untersuchungen vorerst keine Bedeutung haben. Die wesentlichsten Teilvorgänge dieser Reaktionsfolge sind auch für das Gewebe der Kartoffelknollen speziell nachgewiesen worden. Der aus dem

Tricarbonsäurezyklus zur Verfügung stehende Wasserstoff kann schließlich durch die Vermittlung verschiedener Endoxydasen, welche den Sauerstoff „aktivieren", zu Wasser umgesetzt werden. In welchem Ausmaß diese verschiedenen Endoxydasen im Gewebe höherer Pflanzen wirksam sind, ist noch nicht befriedigend geklärt (33). Dies gilt auch für das Gewebe der Kartoffelknolle.

Die meisten Autoren (9, 36) sehen das Polyphenoloxydasesystem als Hauptfaktor der „Atmung" in der Kartoffel an, welches 66 % bzw. 85 % der „Atmung" bestreiten soll. Seine Substrate sind Brenzcatechin, Tyrosin oder ähnlich gebaute, phenolische Verbindungen. Weiterhin ist anzunehmen, daß Peroxydase im Kartoffelgewebe vorhanden ist (23), die nach Ansicht SZENT-GYÖRGYIS (43) das von der Reaktion Ascorbinsäure-Dehydroascorbinsäure freiwerdende H_2O_2 in Gemeinschaft mit Phenolkörpern katalysiert. In neuester Zeit üben LEVY und Mitarbeiter (25, 40) Kritik an der zentralen Stellung des Phenoloxydasesystems. Gestützt auf die Tatsache, daß die Hauptgruppe des Atmungsferments CO empfindlich ist, jedoch im Blaulicht wieder enthemmt wird, sehen sie das Cytochromsystem als Hauptfaktor in der Atmung der Kartoffel an. Sie schätzen den Teil der Atmung, die dieses System verarbeitet, auf 70 %. Jedenfalls muß damit gerechnet werden, daß in der Kartoffelknolle kupferhaltige Polyphenoloxydasen und das eisenhaltige Cytochromsystem nebeneinander wirksam sind und eine Beteiligung weiterer Endoxydasen nicht ausgeschlossen ist. Die Bestimmungsgründe für ihre relative Bedeutung sind noch unbekannt (33).

Die Beeinflussung der einzelnen Phasen des „Atmungsstoffwechsels" ist vor allem an der Veränderung der Sauerstoffaufnahme gemessen worden. In unserem Zusammenhange interessieren folgende Befunde: 2,4 Dinitrophenol entkoppelt die „Atmung" vom Phosphatstoffwechsel (1), Natriumfluorid verhindert die Bildung der Brenztraubensäure durch Blockierung des Fermentes Enolase (14), Semicarbazid kann einen Teil der Brenztraubensäure festlegen (22).

Zugabe von organischen Säuren, welche Glieder des Tricarbonsäurekreislaufs sind, fördern diesen und erhöhen die Sauerstoffaufnahme (10), Malonsäure dagegen hemmt offensichtlich den Ablauf des Tricarbonsäurezyklus durch Blockierung der Bernsteinsäuredehydrase (siehe 9). Auch durch Malachitgrün wird dieser Kreislauf gehemmt (10, 11).

Als Substrate der Polyphenoloxydase dienen verschiedene Phenolkörper. Zugabe des Substrates Brenzcatechin führt aber trotzdem nach kurzer Zeit zur Hemmung des Fermentsystems, wahrscheinlich, weil die Oxydationsprodukte des Brenzcatechins als Inhibitoren wirken (9, 4, 39). Tyrosin beeinflußte die Sauerstoffaufnahme der Kartoffelgewebe nicht (10). Andere Substrate, so Protocatechusäure (10) und Chlorogensäure (20) steigern dagegen die Wirksamkeit der Polyphenoloxydasen. Diese werden von p Nitrophenol durch Substratverdrängung gehemmt (8). Da sie kupferhaltige Fermente darstellen, werden sie auch durch solche Stoffe inaktiviert, welche mit dem Kupfer Verbindungen eingehen. In spezifischer Weise gelingt dies durch

Salicylaldoxim (22) und Natriumdiäthyldithiocarbamat (26, 44), während Kaliumcyanid und Natriumazid noch eisenhaltige Fermente (Cytochromsystem, Peroxydase, Katalase) hemmen (45, 10). Ähnlich wirken auch Phenylurethan (12), Natriumfluorid und Thioharnstoff (14, 35).

Aufbauend auf die in den vorstehenden Abschnitten erörterten Befunde, war es das Ziel unserer Untersuchungen festzustellen, ob erstens die erwähnten Fermenthemmstoffe in ähnlicher Weise wie die von Behr (5) untersuchte Alkoholnarkose das Verhalten resistenter Kartoffelsorten beeinflussen, zweitens, ob durch Zugabe spezifischer Substrate und Inhibitoren die Reaktionsweise anfälliger Kartoffeln verändert werden kann und drittens, ob sich aus solchen Untersuchungen Rückschlüsse auf die Natur des Krankheitsprozesses bzw. auf das Wesen der Krankheitsresistenz im vorliegenden Falle ziehen lassen.

B. Material und Methodik

1. Infektionsmaterial und Infektionsmethode

Da *Phytophthora infestans* in verschiedene Rassen aufgegliedert ist, welche sich im Infektionsverhalten grundsätzlich unterscheiden, mußten als Versuchsmaterial Kartoffelsorten gewählt werden, welche sich im Verhalten gegen eine bestimmte Rasse des Pilzes unterscheiden. Wir beschränkten uns vorerst auf zwei Kartoffelsorten, die Sorte Erdgold als anfällige, die Sorte Aquila, deren Abstammung auf die von K. O. Müller verwendeten W-Stämme zurückgeht, als resistente Sorte.

Als Infektionsmaterial diente *Phytophthora infestans* physiologische Rasse A (38), welche uns als Abkömmling einer Einsporkultur vom Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung Voldagsen freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurde.*) Der Pilz wurde auf Biomalz-Nährboden nach Schick (41) kultiviert. Da er auf diesem Nährboden seine Infektionsfähigkeit allmählich verliert, wurde nach jeder zweiten Vermehrung auf Agar eine Passage über eine sterile Kartoffelscheibe eingeschaltet. Zur Infektion diente das von einer solchen Kartoffelkultur abgenommene Myzelgeflecht. Dieses wurde in einem Glaskolben in etwa 30 cm^2 Wasser unter Zusatz kleiner Glaskugeln geschüttelt und so in ziemlich gleich große Myzelstückchen verrieben. In einer solchen Myzelaufschwemmung schwärmten nach zweistündigem Stehen im Thermostaten bei 8 °C die Zoosporen. Diese Sporensuspension enthielt im Durchschnitt 5000 lebende Zoosporen je cm^3, welche mittels einer sterilen Pipette auf die frische Schnittfläche einer halbierten Kartoffel aufgetropft werden konnte. Die auf diese Weise infizierten, halbierten Kartoffelknollen wurden bei der für den Pilz optimalen Temperatur von 19 °C in einzelnen Glasschalen aufgestellt. Aus Platzmangel konnte nur je eine Wiederholung jedes Versuches unter großen, mit Filtrierpapier ausgeschlagenen Glasglocken untergebracht werden, bei welchen die Feuchtigkeit nahezu 100 % betrug. Wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Kulturverfahren traten nicht auf.

2. Die Applikation der zu prüfenden Stoffe

Zur Einbringung der zu untersuchenden Stoffe in das Kartoffelgewebe wurde der Weg der Vakuuminfiltration gewählt. Hierzu wurden jeweils zwei Knollenhälften, die vorher sorgfältig mit Chlorkalk desinfiziert und mit sterilem Wasser nachgewaschen waren, in Glasschalen von 10 cm Durchmesser in die Versuchslösung eingetaucht. Die Knollen wurden 15 Minuten lang in einem Exsikkator bei einem Druck von 16 bis 18 mm Queck-

*) Herrn Dr. P. Schaper danke ich auch an dieser Stelle bestens für die Überlassung der Kultur.

silber infiltriert. Nach Ablassen des Unterdrucks konnte die Testlösung in die von der Luft befreiten Interzellularen eindringen. Weiteres Stehenlassen für 15 Minuten sorgte für gutes Ausbreiten der Lösung in der Knolle. Durch die Infiltration erfuhren die Knollen eine Gewichtszunahme von 2,4 %. Dies stimmt mit den von BEHR (5) festgestellten Werten gut überein.

Um festzustellen, ob durch die infiltrierte Wassermenge oder durch mögliche mechanische Beeinflussung der Zellen beim Infiltrationsvorgang die Reaktionsweise der Kartoffeln verändert wird, wurde der Infektionsverlauf auf unbehandelten und mit reinem Wasser infiltrierten Knollenhälften genau verfolgt; es traten weder auf der anfälligen noch auf der resistenten Sorte Unterschiede auf. Trotzdem wurden in den folgenden Versuchsserien jeweils eine völlig unbehandelte und eine mit Wasser infiltrierte Probe mitbeobachtet.

Für die Untersuchungen wurden die bereits früher genannten (siehe S. 156) Substrate und Inhibitoren verwendet. (Vgl. auch die Zusammenstellung in Tabelle 2.) Fast alle Substanzen standen als reine Handelspräparate zur Verfügung. Lediglich die Chlorogensäure wurde selbst aus grünen Kaffeebohnen nach der Vorschrift von FREUDENBERG (16) gewonnen. Die papierchromatographische Prüfung des Präparates ergab dessen Einheitlichkeit und Übereinstimmung mit den Literaturangaben (34).

Fast alle Substanzen konnten in wäßriger Lösung angewendet werden. Nur bei Phenylurethan und Salicylaldoxim mußte dem Lösungsmittel 1 % Methylalkohol zugeführt werden, ein Zusatz, welcher nach den Versuchen von BEHR (5) keine Wirkung auf den Infektionsverlauf haben konnte.

3. Die Auswertung der Versuche

Zur Beurteilung der Versuchsergebnisse mußte erstens die Verträglichkeit der untersuchten Substanzen mit den beiden Symbiosepartnern und zweitens der Verlauf der Infektion unter dem Einfluß der Substanzen festgestellt werden.

a) Die Verträglichkeit der geprüften Stoffe mit *Phytophthora*

Die Prüfung wurde auf Agarkulturen durchgeführt. Es wurden Verdünnungsreihen der einzelnen Stoffe hergestellt, und diese dem Nähragar vor dem Ausgießen in Petrischalen zugefügt. Nach dem Erkalten wurden die Schalen beimpft. Hierzu wurden von einer gleichmäßig mit *Phytophthora* bewachsenen Platte mit einem Korkbohrer runde Scheiben von 6 mm Durchmesser ausgestanzt; diese wurden jeweils in die Mitte der Petrischale aufgesetzt. Der Pilz bildete von der Infektionsscheibe ausgehend eine kreisförmige Kultur, deren Zuwachs als Radius an sechs aufeinanderfolgenden Tagen gemessen wurde. Es wurden jeweils vier Wiederholungen angesetzt, deren Meßergebnisse gut übereinstimmten. Die Mittelwerte der auf den zu prüfenden Stoffen gewachsenen Kulturen wurden mit dem Wachstum einer ohne Zusätze gleichzeitig heranwachsenden Kultur verglichen. Der besseren Übersicht halber werden in den folgenden Tabellen jeweils nur die Mittelwerte von drei Ablesedaten herausgegriffen.

b) Prüfung der Toxizität der verwendeten Stoffe für das Kartoffelgewebe

Um festzustellen, in welcher Konzentration die einzelnen Stoffe vom Knollengewebe vertragen werden, wurden Verdünnungsreihen hergestellt und in der oben beschriebenen Weise in Kartoffelparenchymwürfel von etwa 3 cm^3 Größe infiltriert. Danach wurden die Gewebewürfel etwa fünf Stunden in 0,1%ige Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung eingelegt (24). Waren die Lebensfunktionen des Gewebes noch nicht erloschen, färbten sich die Zellen rot an. Zur Kontrolle wurde die auf diese Weise ermittelte Verträglichkeitskonzentration nochmals in Knollenstückchen infiltriert und das Gewebe auf die Fähigkeit zur Wundkorkbildung untersucht. Der Wundkork ließ sich leicht mit Sudan III anfärben, nachdem das Gewebe mit Na-Hypochlorit aufgehellt war. Bildete sich ein deutliches Wund-

periderm an der Schnittfläche aus, konnte das Gewebe mit Sicherheit als lebend betrachtet werden.

c) Messung des Infektionsverlaufs

Der Verlauf der Infektion wurde unter zwei Gesichtspunkten verfolgt. Erstens wurde die Fruktifikationsintensität gemessen, zweitens wurde festgestellt, wie rasch das *Phytophthora*myzel in die tieferen Schichten der Knollen eindrang.

Die Intensität der Sporangienbildung auf der Schnittfläche wurde auf Grund der Ausdehnung des Sporangienrasens in sechs Stufen bewertet, wobei 0 völlige Abwesenheit von Sporangienträgern bedeutet, 5 = völlige Bedeckung der Schnittfläche. Die Wertzahl 2 bis 3 weist auf 50 % Bedeckung hin. Die Dichte des Myzelrasens brauchte nicht besonders bewertet zu werden, da sie sich weitgehend der Ausbreitung proportional erwies.

Um die Eindringungstiefe des Pilzes in die Knolle zu ermitteln, wurden einer mit dem Korkbohrer ausgestanzten Säule in verschiedenen Abständen Querschnitte entnommen, die in gesundes Knollengewebe eingesetzt wurden. War *Phytophthora* in den Testplättchen vorhanden, infizierte sie auch die gesunde Knolle und konnte dort an der Luftmyzelbildung erkannt werden. Noch besser konnte der Pilz nach einer Anfärbung mit Rhodamin B sichtbar gemacht werden. Befallene Zellen und Hyphenstränge färben sich hierdurch leuchtend rot an. Bemerkenswert ist, daß in jungen, noch nicht ausgereiften Knollen das gesunde Leitgewebe ebenfalls durch Rhodamin B angefärbt wird. Hier ist eine genaue Beobachtung der Pilzhyphen erforderlich.

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchung und der Kulturmethode stimmen gut überein (z. B. Tabelle 1).

Tabelle 1

Die Übereinstimmung der Auswertungsmethoden

	Kulturmethode				Anfärbung						
	0—4	4—8	8—12	12—15 mm	0—3	3	6	9	12	15	18 mm
Kontr. Aquila ..	+	—	—	—	+	+	—				
	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	
SA.*) Infiltr. ...	+	+	—	+	+	—	—	+	-		
	+	—	—	+	+	—	—	—	+	+	
NaF.*) Infiltr. ..	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	
	+	—	—	—	+	—	+	+	—	—	+

\+ = Myzel vorhanden
— = keine Subkultur bzw. Zellen hyphenfrei
*) Vgl. Tabelle 2.

In „Aquila" kann der Pilz in der obersten Zellage zwar histologisch festgestellt werden, er ist aber offenbar so geschwächt, daß er in das anschließende anfällige Knollengewebe nicht mehr hineinwachsen konnte. Die histologische Untersuchung zeigt das Eindringungsvermögen besonders scharf an, im folgenden wurde daher nur auf die Ergebnisse dieses Verfahrens Bezug genommen.

Um festzustellen, ob die entstehenden nekrotischen Zellveränderungen bei der behandelten Kartoffelknolle denjenigen der in gleicher Weise infizierten anfälligen Sorte gleichzusetzen sind, wurden einige von Meyer (27) vormals untersuchte Zellreaktionen angewandt; die Veränderung der Stärkekörner, das Speicherungsvermögen der nekrotisierten Zellpartien mit Vitalfarbstoffen, die Zusammensetzung der Membran und die Fähigkeit zur Gerbstoffbildung, nachgewiesen mit dem Ammoniummolybdat-Reagenz nach Gardiner-Wisselingh. All diese Reaktionen ließen keinen Unterschied zwischen den nekrotisierten Zellen der anfälligen Sorte und der, durch die Fermenthemmstoffe zur anfälligen Kartoffel umgewandelten Knolle erkennen.

C. Versuchsergebnisse

I. Verträglichkeit der geprüften Stoffe mit dem Kartoffelgewebe

Für das Ziel unserer Untersuchungen erschien es zweckmäßig, die Inhibitoren und Substrate in der höchsten vom Kartoffelgewebe vertragenen Konzentration anzuwenden. Als „verträgliche Konzentration" wurde jene Verdünnung gewählt, welche nach Infiltration die Bildung von Wundkork in der Kartoffelknolle gerade noch gestattete.

In Tabelle 2 sind die mittels der auf S. 158 beschriebenen Methode gefundenen „verträglichen Konzentrationen" für alle untersuchten Stoffe zusammengestellt:

Tabelle 2

Bezeichnung und Verträglichkeitskonzentration der geprüften Stoffe

Substanz	Abkürzung*)	chemische Formel	Verträglichkeits-Konzentration
Natriumazid	NaN_3	NaN_3	10^{-3} mol.
Natriumfluorid	NaF	NaF	10^{-3} „
Phenylurethan	PU	$C_6H_5NHCOOC_2H_5$	10^{-3} „
Kaliumcyanid	KCN	KCN	10^{-3} „
p-Nitrophenol	NP	$C_6H_4NO_2OH$	10^{-3} „
Na-diäthyldithiocarbamat	DDC	$(C_2H_5)_2NCSNa+3H_2O$	10^{-3} „
Salicylaldoxim	SA	$NH_2(C_6H_4CHOHNO)_2$	10^{-4} „
Thioharnstoff	TH	$(H_2N)_2CS$	10^{-2} „
Brenzcatechin	Bc.	$C_6H_4(OH)_2$	10^{-3} „
Tyrosin	Tyr.	$HOC_6H_4CH_2CHNH_2COOH$	10^{-3} „
Protocatechusäure	Prot.	$C_6H_3CO_2H(OH)_2$	10^{-3} „
Kupferron	Ku.	$C_6H_5N_2O_2NH_4$	10^{-4} „
2,4 Dinitrophenol	DNP	$C_6H_3(NO_2)_2OH$	10^{-5} „
Semicarbazidchlorhydrat	SK	$H_2NCONHNH_2HCl$	10^{-2} „
Malonsäure	Mal.	$CH_2(CO_2H)_2$	10^{-3} „
Brenztraubensäure	Brtrs.	$CH_3COCOOH$	10^{-3} „
Äpfelsäure	Äs.	$HO_2CCH_2CH(OH)CO_2H$	10^{-3} „
Bernsteinsäure	Bs.	$HO_2CCH_2CH_2CO_2H$	10^{-3} „
Fumarsäure	Fs.	$HO_2CCH:HCCO_2H$	10^{-3} „
Malachitgrün	MG	$C_6H_5C(C_6H)_2(NCH_3)_4Cl$	1/30000 Gew. %

*) In den folgenden Tabellen werden diese Abkürzungen verwendet.

II. Versuche zur Beeinflussung des Polyphenoloxydasesystems

a) Hemmung:

Die Infiltration der einzelnen Inhibitoren hindert die Knolle an der Ausbildung nekrotisierten Gewebes nach *Phytophthora*befall nicht, es wird hierbei lediglich die Bildung der Nekrosen verzögert. Die nekrotisierten Zellen im infiltrierten Gewebe sind heller gefärbt. Eine Ausnahme bildet hier nur Phenylurethan, welches tiefbraune Nekrosen induziert.

aa) Spezifische Kupfer-Hemmstoffe

Alle spezifischen Kupferinhibitoren hemmen *Phytophthora infestans* auf Agarplatten in der infiltrierten Konzentration vollständig (Tabelle 3).

Tabelle 3

Die Wirkung der spezifischen Kupferinhibitoren auf das Wachstum von *Phytophthora* im Plattentest

	absolute Werte			Relativwerte		
	9. Tag	13. Tag	17. Tag	9. Tag	13. Tag	17. Tag
Kontrolle	0,1	0,8	1,5	7	53	100
NP 10^{-3} mol.	—	—	—	0	0	0
NP 10^{-4} mol.	—	0,5	0,9	0	33	60
NP 10^{-5} mol.	0,1	0,6	1,1	7	40	73
Kontrolle	1,0	1,9	2,6	38	73	100
DDC 10^{-3} mol.	—	—	—	0	0	0
DDC 10^{-4} mol.	0,8	1,5	1,7	31	58	65
DDC 10^{-5} mol.	1,0	1,6	2,0	38	62	77
Kontrolle	0,7	1,5	1,9	37	79	100
SA 10^{-4} mol.	—	0,3	0,6	0	16	31
SA 10^{-5} mol.	0,2	0,7	1,3	11	37	68
SA 10^{-6} mol.	0,4	1,1	1,8	21	53	58

Tabelle 4

Myzelentwicklung auf der Schnittfläche von Kartoffelhälften der Sorte Aquila nach Infiltration spezifischer Kupferinhibitoren

	3. Tag				5. Tag				7. Tag			
Kontrolle Erdgold	3	2–3	2	1–2	5	5	4–5	4–5	5	5	5	5
Kontrolle Aquila	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NP	1	1	0	0	2	2	2	2	3	3	2	2
DDC	1–2	1	0	0	2	1	2	1	2–3	2	1–2	1–2
SA	0	1	0	0	1	2	1	0	1	2	1	1

Tabelle 5

Ausbreitung des Pilzes in den mit spezifischen Kupferinhibitoren behandelten Knollenhälften (angelegt in der Kulturmethode)

	0—4	4—8	8—12	12—16 mm		0—4	4—8	8—12	12–16 mm
Kontrolle	+	—	—	—	Kontrolle	+	+	+	+
Aquila	—	—	—	—	Erdgold	+	+	+	+
		-				+	+	+	+
	—	—	—	—		+	+	+	+
NP	+	-			DDC	+	+	+	
		—				—	—	-	
	+	+	+	—		+	—	—	—
		-		-		—	--		
SA	+	+	—	+					
	+	—	—	—					
	+	—	—	.					
	+	—	—	+					

Die Infiltration dieser Stoffe im Kartoffelgewebe wirkt sich auf den *Phytophthora*befall der beiden Sorten unterschiedlich aus. Fruktifikationsintensität und Wachstumsgeschwindigkeit des Pilzes in „Erdgold" werden nicht beeinflußt. Auf „Aquila" wurde dagegen Fruktifikation von *Phytophthora* ermöglicht (Tabelle 4).

Der Pilz ist auch in der Lage, tiefere Schichten zu besiedeln (Tabelle 5).

Die am Kupfer angreifenden Inhibitoren können, selbst in Konzentrationen, welche im Plattentest den Pilz hemmen, die Resistenz von Aquila bis zu einem gewissen Grade aufheben. Der Befall an Erdgold bleibt unbeeinflußt.

bb) Unspezifische Oxydationsfermenthemmstoffe

Auch diejenigen geprüften Stoffe, welche kupfer- und eisenhaltige Fermente gleichzeitig festlegen, hemmen das Wachstum der *Phytophthora* auf der Agarkultur (Tabelle 6). Einzig NaF beeinträchtigt das Pilzwachstum in der infiltrierten Verdünnung nicht.

Tabelle 6

Die Wirkung unspezifischer Fermenthemmstoffe auf das Wachstum der *Phytophthora* im Plattentest

	absolute Werte			Relativwerte		
	9. Tag	13. Tag	17. Tag	9. Tag	13. Tag	17. Tag
Kontrolle	0,8	1,9	2,6	38	73	100
NaN_3 10^{-3} mol.	—	—	—	0	0	0
NaN_3 10^{-4} mol.	—	—	—	0	0	0
NaN_3 10^{-5} mol.	—	0,3	1,0	0	8	38
PU 10^{-3} mol.	0,8	1,4	1,9	31	54	73
PU 10^{-4} mol.	0,3	0,8	1,5	12	31	58
PU 10^{-5} mol.	0,9	1,4	2,2	35	62	85
KCN 10^{-3} mol.	0,5	0,9	1,4	19	34	54
KCN 10^{-4} mol.	0,6	1,5	2,2	23	58	85
KCN 10^{-5} mol.	0,6	1,3	2,0	23	50	77
Kontrolle	0,7	1,5	1,9	37	79	100
TH 10^{-2} mol.	—	—	—	0	0	0
TH 10^{-3} mol.	0,1	0,3	0,6	5	16	31
TH 10^{-4} mol.	0,4	0,8	1,2	21	42	63
NaF 10^{-3} mol.	0,6	1,2	1,9	32	63	100
NaF 10^{-4} mol.	0,6	1,1	1,6	32	58	89
NaF 10^{-5} mol.	0,3	1,1	1,3	16	58	68
Ku. 10^{-4} mol.	—	—	—	0	0	0
Ku. 10^{-5} mol.	0,1	0,5	1,0	5	26	53
Ku. 10^{-6} mol.	0,4	1,0	1,1	21	53	58

Nach der Infiltration der genannten Stoffe kann *Phytophthora* auf der vormals resistenten Knolle fruktifizieren (siehe Tab. 7).

Tabelle 7

Myzelentwicklung auf der Schnittfläche von Kartoffelhälften der Sorte Aquila nach Infiltration verschiedener Oxydationsfermenthemmstoffe

	3. Tag				5. Tag				7. Tag			
Kontr. Erdgold .	3	2–3	2	1–2	5	5	4–5	4–5	5	5	5	5
Kontr. Aquila ..	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NaN_3	2	2	2	2	4	4	4	4	5	4	5	4
NaF	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3
PU	2	2	1	1	3	1	2	1	2	2	3	2
KCN	1	1	1	1	1–2	1	2	1	2	2	3	2
Ku.	1	1	0	0	2	2	0	0	2	2	2	1
TH	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1

Auch hier kann der Pilz nach Infiltration die Aquilaknolle vollständig besiedeln.

Tabelle 8

Ausbreitung des Pilzes in den mit Fermenthemmstoffen behandelten Knollenhälften

(angelegt in der Kulturmethode)

	0—4	4—8	8—12	12—16 mm		0—4	4—8	8—12	12–16 mm
Kontrolle	+	—	—	—	Kontrolle ..	+	+	+	+
Aquila ..	—	—	—	—	Erdgold ...	+	+	+	+
			—			+	+	+	+
	—	—	—	—		+	+	+	+
NaN_3 ...	+	—	+	+	NaF	+	+	—	+
	+	—	·	·		·	—		·
	+	+	+	+		+	+	+	—
	+	+	+	—		+	—	—	—
PU	+	+	+	+	KCN	+	+	+	—
	+	+	+	+		+	+	+	—
	+	+	+	+		+	+	+	+
	+	+	+	—		+	+	+	—
TH	+	—	—	+	Ku.	+	+	—	+
	+					+			·
	+	+				+	—	—	—
		+				+			

Die meisten Inhibitoren, welche mehrere Fermente gleichzeitig festlegen, wie z. B. NaN_3, KCN, PU und Ku, die Cu- und Fe-haltige Fermente angreifen und NaF, das Cu- Fe- und Mg-haltige Enzyme blockiert, wirken viel stärker als die „spezifischen" Cu-Inhibitoren. Erstere lassen zu 50 bis 90 % ein Wachstum des Pilzes auf der Schnittfläche zu, während die spezifischen Inhibitoren nur zu 25 bis 50 % eine Bedeckung von Myzel auf der Knollenschnittfläche ermöglichen. Gleiches gilt für die Eindringungstiefe des Pilzes in die Knolle. TH macht hierbei eine Ausnahme, er wirkt nur schwach.

b) Die Wirkung der Fermentsubstrate

aa) Hemmende Substrate

Brenzcatechin hemmt in der infiltrierten Konzentration das Pilzwachstum auf Agarplatten vollständig, Tyrosin dagegen nur schwach (Tabelle 9).

Tabelle 9

Wirkung von Brenzcatechin und Tyrosin auf *Phytophthora* im Plattentest

	absolute Werte			Relativwerte		
	9. Tag	13. Tag	17. Tag	9. Tag	13. Tag	17. Tag
Kontrolle	0,8	1,6	3,5	23	46	100
Bc. 10^{-3} mol.	—	—	—	0	0	0
Bc. 10^{-4} mol.	0,2	0,7	2,0	6	20	57
Bc. 10^{-5} mol.	0,5	0,9	1,9	14	26	54
Kontrolle	0,7	1,4	2,5	28	56	100
Tyr. 10^{-3} mol.	0,4	0,7	1,2	16	36	60
Tyr. 10^{-4} mol.	0,8	1,5	2,3	32	60	92

Infiltration von Brenzcatechin und Tyrosin vermindert die Entwicklung des Pilzes auf „Erdgold" nicht, dagegen ermöglicht eine solche Behandlung dem Pilz reichliche Fruktifikation auf „Aquila" (Tabelle 10); das Myzel dringt in die Knollen dieser Sorte schnell und tief ein; die durch den Pilz nekrotisierten Zellen waren auffällig dunkel gefärbt.

Tabelle 10

Myzelentwicklung auf Knollen der Sorte Aquila nach Brenzcatechin und Tyrosininfiltration

	3. Tag				5. Tag				7. Tag			
Kontrolle Erdgold	2	2	2	2	4	4	4	4	5	5	5	5
Kontrolle Aquila	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bc. 10^{-3} mol.	2	2	2	3	3	3	3	4	4	4	3	5
Tyr. 10^{-3} mol.	3	4	3	3	4	4	4	4	5	5	5	5

Es ist bekannt, daß Brenzcatechin die Atmung des Knollengewebes stark beeinträchtigt, also als (spezifischer) Hemmstoff wirkt (9, 4, 39). Dieser stoffwechselphysiologische Effekt wurde bei Tyrosin nicht beobachtet (10). Trotzdem setzte es in unseren Versuchen, ähnlich wie Brenzcatechin, die Resistenz von Aquila beträchtlich herab.

bb) Fördernde Substrate

Protocatechusäure beeinflußt die Reaktionsweise von „Aquila" nicht. Auch das Myzelwachstum auf den Schnittflächen von „Erdgold" wird kaum beeinträchtigt. Dagegen wird das Eindringen des Pilzes in das Innere der Knollen dieser Sorte während der ersten Woche deutlich gehemmt. Bis zum

achten Tage waren im Gegensatz zu den Kontrollen nur die obersten Zellschichten vom Pilz besiedelt. Erst vom 12. Tage an dringt er schnell tiefer ein und hat am 18. Tage die ganze Knolle durchwuchert.

Protocatechusäure hemmt das Wachstum von *Phytophthora* auf Agarplatte nicht (Tabelle 11).

Tabelle 11

Wirkung von Protocatechusäure auf *Phytophthora* im Plattentest

	absolute Werte			Relativwerte		
	9. Tag	13. Tag	17. Tag	9. Tag	13. Tag	17. Tag
Kontrolle	0,7	1,2	2,7	26	44	100
Prot. 10^{-3} mol.	0,6	1,4	2,3	22	52	85
Prot. 10^{-4} mol.	0,7	1,8	3,0	26	67	110
Prot. 10^{-5} mol.	0,6	1,7	2,7	22	63	100

Die Hemmung der Ausbreitung in Knollen von „Erdgold" muß also auf eine Veränderung der Reaktionsweise des Wirtes zurückgeführt werden.

Da von Chlorogensäure nur geringe Mengen zur Verfügung standen, konnten nur kleine, 1,5 cm dicke Kartoffelscheiben infiltriert werden. Das Vordringen von *Phytophthora* im Gewebe wurde durch Auszählen der befallenen Zellagen ermittelt. Auch Chlorogensäure beeinflußt die Reaktion von „Aquila" nicht, auf „Erdgold" wird dagegen bis zum fünften Tage nach der Infektion die Fruktifikation von *Phytophthora* völlig unterbunden, der Pilz befällt nur die obersten Zellagen. Erst am siebenten Tage nach der Infektion zeigt sich in schwachem Maße Luftmyzel. Von diesem Zeitpunkt an dringt der Pilz rasch tiefer ein, seine Hyphen durchdringen das ganze Kartoffelstück (Tabelle 12).

Tabelle 12

Myzelentwicklung auf der Schnittfläche von Kartoffelscheiben nach Chlorogensäureinfiltration

	3. Tag	5. Tag	7. Tag	9. Tag
Kontrolle Erdgold	1 1	3 3	4 4	5 5
Kontrolle Aquila	0 0	0 0	0 0	0 0
1/10% Chlorogensäure E.	0 0	1 0	3 4	4 4
1/100% Chlorogensäure E.	0 0	0 0	4 4	4 4
1/1000% Chlorogensäure E.	0 0	1 0	3 4	4 4

Protocatechusäure und Chlorogensäure wirken nur kurzfristig. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß sie im Gewebe schnell oxydative Umwandlungen erfahren.

III. Versuche zur Beeinflussung der Glykolyse und des Tricarbonsäurekreislaufs

a) Eingriffe in die Glykolyse

Natriumfluorid wirkt sich auf das Pilzwachstum beider Kartoffelsorten unterschiedlich aus (Tabelle 13).

Auf „Aquila" wird mittlere Fruktifikation ermöglicht, auf „Erdgold" dagegen zeigt sich eine Abnahme der Fruktifikationsintensität.

Tabelle 13

Myzelentwicklung auf Knollenhälften nach NaF-Infiltration

	3. Tag				5. Tag				7. Tag			
Kontrolle Aquila ...	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle Erdgold .	1	1	1	1	4	3	3	3	5	5	5	5
NaF Aquila	0	0	0	0	2	2	1	1	3	3	2	2
NaF Erdgold	1	1	1	1	3	3	2	2	4	4	3	3

Ähnliches gilt für die Ausbreitungsfähigkeit des Pilzes in der Knolle (Tabelle 14). Die Wirkung des NaF auf den Pilz ist auf S. 162 beschrieben.

Tabelle 14

Ausbreitung des Pilzes in den mit NaF behandelten Knollenhälften
(angefärbt mit Rhodamin B)

	0—3	3	6	9	12	15 mm		0—3	3	6	9	12 mm
Kontr. Erdgold .. 1.	+	+	+	+	—		NaF Erdgold ..	+	+	—	—	—
2.	+	+	+	+	—	+		+	+	—	—	—
3.	+	+	+	+	+			+	+	—	—	—
Kontr. Aquila .. 1.	+	+	—	—	—		NaF Aquila ...	+	+	+	—	
2.	+	+	—	—	—			+	+	—	+	
3.	+	—	—	—	—			+	+	+	—	+

2,4 Dinitrophenol beeinflußt die Reaktion beider Versuchssorten in keiner Weise. NaF, welches neben der Hemmung der Brenztraubensäurebildung noch andere Fermentsysteme hemmt, verzögert die hypersensitive Reaktion in „Aquila", verschlechtert aber auch die Eindringungsbedingungen für den Pilz auf „Erdgold".

b) Hemmung des Tricarbonsäurekreislaufs

Malonsäure und Malachitgrün beeinflussen die Reaktion von „Aquila" nicht. Auf „Erdgold" wird eine Fruktifikation von *Phytophthora* vollständig unterbunden; trotzdem gelingt es dem Pilz, alle Teile der Knolle zu besiedeln. Auch in tieferen Schichten hat er die Fähigkeit verloren, auf Gewebescheiben aus diesen Schichten zu fruktifizieren.

Malonsäure wirkt nicht wachstumshemmend auf *Phytophthora* (Tabelle 15), dagegen verhindert Malachitgrün noch in 1/100 der infiltrierten Verdünnung das Pilzwachstum vollkommen.

Tabelle 15

Die Wirkung von Malonsäure auf das Pilzwachstum im Plattentest

	absolute Werte			Relativwerte		
	9. Tag	13. Tag	17. Tag	9. Tag	13. Tag	17. Tag
Kontrolle	0,6	1,2	1,8	33	67	100
Mal. 10^{-3} mol.	0,6	1,4	2,0	33	78	111
Mal. 10^{-4} mol.	0,3	1,3	2,1	17	72	117
Mal. 10^{-5} mol.	0,3	1,3	2,0	17	72	111

Semicarbazid vermindert etwas den Fruktifikationsgrad auf „Erdgold" und ermöglicht spärliche Ausbildung von Luftmyzel auf „Aquila" (Tabelle 16).

Tabelle 16

Myzelentwicklung auf Kartoffelhälften nach Infiltration von Semicarbazid

	3. Tag				5. Tag				7. Tag			
Kontrolle Erdgold .	1	1	1	1	3	3	3	4	5	5	5	5
Kontrolle Aquila ...	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SK Erdgold	1	1	1	1	3	3	3	3	4	4	3	3
SK Aquila	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2

Tiefere Schichten erfahren jedoch keine Veränderung in ihrem Verhalten gegen *Phytophthora*befall.

c) Förderung des Tricarbonsäurekreislaufs durch Substratzugabe

Außer Brenztraubensäure hemmen alle untersuchten Tricarbonsäuren das Wachstum der *Phytophthora* im Plattentest (Tabelle 17).

Tabelle 17

Die Wirkung einzelner Tricarbonsäuren auf das Pilzwachstum im Plattentest

	absolute Werte			Relativwerte		
	9. Tag	13. Tag	17. Tag	9. Tag	13. Tag	17. Tag
Kontrolle	0,7	1,4	2,5	28	56	100
Brtrs. 10^{-3} mol.	0,6	1,5	2,5	24	60	100
Brtrs. 10^{-4} mol.	0,6	1,1	1,2	24	44	48
Fs. 10^{-3} mol.	—	—	—	0	0	0
Fs. 10^{-4} mol.	0,4	0,9	1,8	16	36	60
Äs. 10^{-3} mol.	0,3	0,4	0,5	12	16	20
Äs. 10^{-4} mol.	0,3	0,6	1,2	12	24	48
Bs. 10^{-3} mol.	—	0,3	0,7	0	12	28
Bs. 10^{-4} mol.	0,4	0,9	1,8	16	36	72

Ihre Wirkung auf die Pilzentwicklung nach Infiltration zeigt Tabelle 18.

Die Fruktifikation des Pilzes wird auf „Aquila" ermöglicht und durch Fumarsäure und Äpfelsäure stärker gefördert als durch Bernsteinsäure und Brenztraubensäure. Bei „Erdgold" setzt die Luftmyzelentwicklung früher und intensiver ein. Hier wirken alle Säuren gleich stark.

Tabelle 18

Myzelentwicklung auf Kartoffelhälften nach Infiltration einzelner Tricarbonsäuren

		3. Tag				5. Tag				7. Tag			
Kontrolle Aquila		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
Kontrolle Erdgold		2	1	1	1	3	4	4	4	5	5	5	5
Äpfelsäure	Aquila	2	2	1	1	3	4	4	4	5	5	5	5
Äpfelsäure	Erdgold	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
Fumarsäure	Aquila	2	2	2	2	3	3	2	2	4	4	3	3
Fumarsäure	Erdgold	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5
Bernsteinsäure	Aquila	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3
Bernsteinsäure	Erdgold	4	4	3	3	5	5	4	4	5	5	5	5
Brenztraubensäure	Aquila	0	0	0	0	2	2	1	1	2	2	2	2
Brenztraubensäure	Erdgold	3	4	4	4	5	5	4	4	5	5	5	5

„Erdgold" wird nach Infiltration vollkommen von Pilzhyphen durchzogen, während „Aquila" im Innern pilzfrei bleibt. Die Säuren scheinen nur kurzfristig zu wirken.

D. Diskussion

Als allgemeines Ergebnis kann festgestellt werden, daß es gelingt, die Reaktion der Kartoffelknolle gegen *Phytophthora infestans* durch Infiltration verschiedener Stoffe zu verschieben, welchen auf Grund unserer Kenntnisse eine mehr oder weniger spezifische Beeinflussung des abbauenden Kohlenhydratstoffwechsels zugeschrieben werden kann. Inhibitoren von Endoxydasen und einige Säuren des Tricarbonsäurekreislaufs vermindern die Resistenz gegen *Phytophthora infestans;* andere Stoffe mindern bis zu einem gewissen Grade die Anfälligkeit. Eine Diskussion dieser Befunde, welche einen ersten Vorstoß in das Problem des Intermediärstoffwechsels infizierter Pflanzen darstellt, kann nur mit großer Vorsicht und kritischer Zurückhaltung unternommen werden. Insbesondere sind die Voraussetzungen zu prüfen, unter welchen die Versuche überhaupt ausgewertet werden können.

Die hier mitgeteilten Ergebnisse beziehen sich ausschließlich auf die Reaktionsweise der Kartoffelknollen nach Pilzinfektion. *Phytophthora infestans* ist, wie die meisten dem parasitischen Leben angepaßten Pilze, physiologisch spezialisiert. Aus genetischen Untersuchungen über die Vererbung der Resistenz verschiedener Kartoffelsorten gegen verschiedene Rassen des Pilzes (7) geht hervor, daß die Resistenz der Kartoffel gegen einzelne Rassengruppen auf verschiedenen Erbfaktoren beruht, und wir müssen aus

ähnlichen Untersuchungen an anderen Wirt-Parasitpaaren schließen, daß diesen Resistenzfaktoren unterschiedliche Angriffsfaktoren auf seiten des Pilzes komplementär sind. Diese genetischen Befunde machen es wahrscheinlich, daß die Rassengruppen von *Phytophthora infestans* über verschiedene physiologische Angriffsmechanismen im Wirt verfügen. Daher gelten unsere Ergebnisse so lange nur für die untersuchten Wirt-Parasitpaare, als nicht erwiesen ist, daß die gleichen Erscheinungen auch für die Reaktion anderer *Phytophthora*-Rassen auf entsprechenden Kartoffelsorten zutreffen. Dies gilt übrigens auch für die Untersuchungen von MÜLLER und Mitarbeitern (vgl. S. 154).

Den ersten Ansatzpunkt für unsere Untersuchungen gab die Vorstellung, daß für das Absterben der Parasiten in nekrobiotischen oder nekrotisierten Zellen die Bildung von Gerbstoffen bzw. anderen Stoffen, vielleicht kondensierten Oxydationsprodukten von Phenolkörpern, verantwortlich ist (vgl. S. 155). Die Planung unserer Versuche beruht auf dieser hypothetischen Grundlage. Es ist aber unwahrscheinlich, daß solche Stoffe die primäre Ursache rassenspezifischer Resistenzunterschiede sind. Daher muß die Frage der Spezifizität der hier festgestellten Reaktionsweisen aus der Diskussion ausgeklammert werden. Eine Anreicherung der Oxydationprodukte kann deshalb nur unter dem Aspekt eines Reaktionsverlaufes betrachtet werden, welcher unspezifisch als Folge spezifischer Schädigungen eintritt. Alle Autoren, welche sich mit der Bedeutung dieser „Gerbstoffe" auseinandersetzen, sehen in diesen Stoffen Produkte einer dekompensierten Wirkung der Endoxydasen, insbesondere der Phenoloxydasen. Es darf jedoch nicht außer acht gelassen werden, daß auch Peroxydasen an der Oxydation von Phenolkörpern beteiligt sein können.

Die bisher betrachteten Vorgänge beziehen sich ausschließlich auf die oxydative Endphase des intermediären Stoffwechsels. Der Reaktionsablauf dieser Phase ist aber keinesfalls unabhängig von den vorausgehenden Stoffwechselphasen, in welchen sogar rassenspezifische Beziehungen zwischen Wirt und Parasit verankert sein könnten. Vereinzelte Befunde aus der letzten Zeit machen dies sogar wahrscheinlich (18). Unabhängig von diesen Möglichkeiten muß in allen Fällen die Wirkung der Endoxydasen von der Intensität des vorausgehenden Stoffwechsels abhängen. Daher wurde auch versucht, in Tastversuchen den Tricarbonsäurekreislauf zu beeinflussen.

Voraussetzung für die Beeinflussung des intermediären Stoffwechsels durch zugesetzte Stoffe ist natürlich, daß diese in die Zellen eindringen können. Wir durften dies für die von uns gewählten Substanzen und unser Versuchsobjekt voraussetzen, da fast alle geprüften Stoffe bereits von anderen Autoren bei der Bearbeitung physiologischer Fragestellungen an Kartoffelgewebe verwendet worden sind und ihre Wirkung in der Zelle durch Änderung der Atmungsgröße und des Respirationsquotienten gemessen werden konnte. Auf eigene Untersuchungen über das Permeationsvermögen wurde daher verzichtet. Jedoch mußte für jede einzelne Verbindung die für

das Kartoffelgewebe verträgliche Konzentration (vgl. S. 160) festgestellt werden. Die Unterbindung der Wundkorkbildung, welche bei Überschreiten dieser Konzentration in allen Fällen eintrat, kann als experimentelle Bestätigung des Eindringens der Reagenzien gewertet werden.

Ein absoluter Vergleich des Wirkungsgrades der einzelnen Inhibitoren läßt sich allerdings nicht durchführen, da mit wenigen Ausnahmen jeweils nur eine Konzentration dieser Wirkstoffe untersucht werden konnte. Eine Ausdehnung der Versuche war in erster Linie aus technischen Gründen unmöglich. Wir mußten uns daher auf die Prüfung jener maximalen Konzentrationen beschränken, welche sich als „verträglich" im Kartoffelgewebe erwiesen hatten und gleichzeitig keinen zu starken Hemmeffekt auf den Pilz ausübten. Zu berücksichtigen war, daß die nach der Infiltration intrazellulär auf den Pilz wirkenden Mengen erheblich unter der infiltrierten Konzentration liegen mußten. Aus diesem Grunde prüften wir alle Stoffe im Plattentest auch in zwei Zehnerpotenzen niedrigeren Konzentrationen. Hierbei zeigte sich, daß mit Ausnahme von Protocatechusäure und Malonsäure selbst durch die niedrigste Konzentration der Pilz schwach gehemmt wurde.

Nach diesen kritischen Vorbemerkungen können wir zu folgenden Fragen übergehen: 1. Welche Rückschlüsse können aus den Versuchsergebnissen auf den Verlauf der durch eine Infektion ausgelösten Stoffwechselvorgänge gezogen werden bzw. welche Folgerungen ergeben sich für die stoffwechselphysiologische Deutung der Resistenzerscheinungen, und 2. wie fügen sich unsere Ergebnisse in die heute diskutierten Theorien der Pathogenese und der Resistenz ein.

Nach der zugrunde gelegten Hypothese spielen für die Resistenzreaktion Abkömmlinge von Phenolkörpern die entscheidende Rolle, welche als irreversible Endprodukte von Oxydationen durch Endoxydasen, vor allem Phenolasen (unter Umständen auch Peroxydasen) entstehen. Eine Dekompensierung dieser Fermente kann entweder dadurch zustande kommen, daß die Aktivität der Oxydasen über das normale Maß gesteigert wird oder dadurch, daß zu wenig Wasserstoff für die Rehydrierung reversibler Oxydationsstufen zur Verfügung steht. Es steht allerdings noch nicht fest, welches Endoxydasesystem in der Kartoffelknolle normalerweise vorherrscht. Meist wird die Phenoloxydase als das wichtigste Ferment in der Knolle angesehen (vgl. S. 156), daneben bleibt aber auch die Möglichkeit offen, daß das Cytochromsystem o. a. eine Rolle spielt.

Unter der Annahme, daß durch den Krankheitsprozeß eine Überaktivierung der Endoxydasen ausgelöst wird, untersuchten wir daher zuerst eine ganze Reihe von Substanzen, welche metallhaltige Fermente hemmen (vgl. Tabelle 2). Wir erzielten praktisch mit allen eine mehr oder minder ausgeprägte Verminderung der Resistenz, während das Pilzwachstum auf anfälligen Knollen kaum verändert wurde. Den stärksten Effekt unter den nach unseren bisherigen Kenntnissen auf Phenoloxydasen spezifisch wirkenden Stoffen übten die durch ihre Reaktionsprodukte das Fermentsystem vergiftenden Substrate Brenzcatechin und Tyrosin aus. Diese ermöglichten eine nachhaltige, vollständige Fruktifikation des Pilzes auf der resistenten Sorte

und erhöhten in einigen, aber nicht in allen Fällen auch die Geschwindigkeit der Myzelentwicklung auf der anfälligen Sorte.

Betrachten wir nun den Effekt dieser Inhibitoren auf Grund der Eindringungstiefe des Pilzmyzels in die Kartoffelknolle, so fällt auf, daß der färberische Nachweis von Myzel oder erkrankten Zellen eine, wenn auch manchmal unregelmäßig tiefe Durchwucherung der Gewebe behandelter Knollen der resistenten Sorte anzeigt. Hierdurch erscheint einerseits ein indirekter Nachweis dafür gegeben, daß die infiltrierten Stoffe das Gewebe völlig durchdrungen hatten, andererseits wird aber auch gezeigt, daß die Tiefenentwicklung des Myzels unabhängig von der oberflächlich gemessenen Fruktifikationsstärke ist und diese vielfach übertrifft. Dies legt die Vermutung nahe, daß die in der unbehandelten Knolle resistenzbedingenden Reaktionen nicht völlig ausgeschaltet werden, sondern nur ihre Geschwindigkeit so weit gehemmt wird, daß dem Pilzmyzel zwar ein Vordringen im Gewebe möglich ist, die Entwicklung von Luftmyzel aber doch vorzeitig unterbunden wird. Dies wird durch folgende Beobachtung bestätigt: Aus tieferen Schichten „behandelter" Kartoffelknollen, in welchen sich durch Färbung Myzel nachweisen läßt, läßt sich der Pilz nur schwierig reisolieren; häufig wurden hierbei in der Wachstumsintensität geschwächte Subkulturen erhalten.

Die resistenzmindernde Wirkung der verwendeten, metallbindenden Hemmstoffe zwingt zur Erörterung der Frage, welche metallhaltigen Endoxydasen an der Resistenzreaktion beteiligt sein können (vgl. 8). Ob unter den kupferhaltigen Endoxydasen die Ascorbinsäureoxydase eine Rolle spielt, läßt sich nicht entscheiden. Jedenfalls sind die Ergebnisse unserer Versuche auch allein unter Berücksichtigung der Polyphenoloxydase verständlich, deren Aktivität nach Szent-Györgyi (42) durch Schädigung des Gewebes gesteigert wird. In älteren Erörterungen von Resistenzfragen (19, 21) wurde auch eine Steigerung der Peroxydaseaktivität als infektinduzierte Reaktion genannt, welche zu Resistenz der Gewebe führt. Möglicherweise ist dieses eisenhaltige Fermentsystem, dessen Bedeutung im Rahmen des gesamten oxydativen Stoffwechsels noch nicht geklärt ist, die gegen Eiseninhibitoren empfindliche Komponente, welche an der Bildung von Phenoloxydationsprodukten beteiligt sein könnte. In Versuchen, durch Infiltration von Wasserstoffsuperoxyd anfälliges Kartoffelgewebe zu beeinflussen, wurde nur eine schwache, vorübergehende Resistenzsteigerung erzielt, welche nicht dazu ausreicht, eine Mitwirkung der Peroxydase an der Resistenzreaktion zu begründen.

Da neuerdings auch Cytochromsysteme in der Kartoffel nachgewiesen wurden (25, 40), muß die Wirkung der Eisenblockierung auf dieses Fermentsystem mit in Betracht gezogen werden. Kupferron hat, selbst in hohen Konzentrationen, nur eine schwach hemmende Wirkung auf die isolierte Polyphenoloxydase (43). In unseren Versuchen ermöglichte es jedoch in weit niedrigerer Konzentration eine befriedigende Myzelentwicklung auf „Aquila"; es müssen hier in erster Linie die eisenhaltigen Fermente beeinflußt worden sein. Wir müssen also eisen- und kupferhaltige Endoxydasen in Knollen annehmen, die ungehemmt in ähnlicher Weise für *Phytophthora* fungistatische Stoffe bilden können. Für die besondere Bedeutung der Polyphenoloxydasen sprechen jedoch unsere Infiltrationsversuche mit Protocatechu- und Chloro-

gensäure. Diese Säuren beeinflussen resistentes Kartoffelgewebe nicht, während sie in anfälligem eine deutliche, wenn auch schwache und vorübergehende Resistenzsteigerung bewirken.

Bei kritischer Beurteilung muß beachtet werden, daß eine Zugabe dieser Substrate je nach der Stoffwechsellage sich unterschiedlich auswirken kann. Sind reichlich Wasserstoffdonatoren vorhanden, ist eine Erhöhung der Substratkonzentration der Polyphenoloxydasen mit einer Wirkungssteigerung dieses Oxydasesystems ohne irreversible Oxydation der Phenolkörper zu erwarten. Nur wenn mangels verfügbarer Wasserstoffdonatoren die Reduktion primär gebildeter Chinone unmöglich ist, kann eine verstärkte Bildung fungistatischer Oxydationsprodukte erwartet werden. In diesem Sinne könnten solche Substratzugaben bewirken, daß in den bereits vom Pilz angegriffenen Zellen mit dekompensierter Atmung der zuletzt genannte Effekt eintritt, während in den noch unbeschädigten Geweben die Substrate nach dem Schema der erstgenannten Reaktion in einen normalen Stoffwechsel einbezogen werden. Offen bleibt noch die Frage, inwieweit diese Vorstellungen zur Beantwortung der Tiefenwirkung herangezogen werden können.

Unterstellen wir, daß in der Kartoffelknolle nebeneinander kupfer- und eisenhaltige Endoxydasen wirksam sind, wird verständlich, daß die Verwendung spezifischer Cu- oder Fe-bindender Inhibitoren normalerweise nur zu einer unvollständigen Veränderung der Reaktionslage gegen den Pilz führen kann. Infiltration von Hemmstoffen, welche gleichzeitig kupfer- und eisenhaltige Fermente beeinflussen, setzt dagegen die Resistenz in stärkerem Maße herab. Dies gilt insbesondere für Phenylurethan und Natriumazid, weniger für Natriumfluorid und Kaliumcyanid. Bei Natriumazid und Phenylurethan fällt insbesondere die rasche Initialwirkung und die längere Dauer des Effektes auf. Dies entspricht also der Erwartung. Allerdings ist gerade bei den genannten Stoffen nicht ausgeschlossen, daß sie neben den Endoxydasen auch andere, stoffwechselsteuernde Fermente beeinflussen.

Irreversible Oxydationen von Phenolkörpern als Substrat der Endoxydasen sind nur wahrscheinlich, wenn ein relativer oder absoluter Mangel an Wasserstoffdonatoren vorhanden ist. Ein Mißverhältnis zwischen Sauerstoffaktivator bzw. Wasserstoffakzeptor und Wasserstoffdonator kann nicht nur durch „Lähmung" des ersteren verändert werden, sondern hängt naturgemäß auch mittelbar oder unmittelbar von der Wirksamkeit der in vorausgehenden Stoffwechselphasen tätigen Dehydrogenasen ab. Versuche zur Hemmung des Tricarbonsäurezyklus durch Infiltration von Malonsäure und Malachitgrün ergaben eine vollständige und nachhaltige Hemmung der Myzelentwicklung auf anfälligem Kartoffelgewebe, ohne daß das Eindringen des Pilzes in die tieferen Knollenschichten unterbunden wäre. Während *Phytophthora infestans* durch minimale Mengen von Malachitgrün, welche weit unter der zur Infiltration verwendeten Konzentration liegen, völlig gehemmt wird, ist sie gegenüber den verwendeten Malonsäuremengen im Plattentest unempfindlich. Die Hemmung der Luftmyzelentwicklung kann daher nicht einfach als unmittelbare Wirkung auf den Pilz gedeutet werden. Eher wäre in Betracht zu ziehen, daß eine Anhäufung von Bernsteinsäure oder

Fumarsäure im Kartoffelgewebe eine Hemmung auslöst, da beide Säuren im Plattentest bei der Konzentration von 10^{-3} mol. das Pilzwachstum hemmen. Es ist bemerkenswert, daß kürzlich Unterschiede von verschiedenen *Phytophthora*rassen hinsichtlich der Empfindlichkeit gegenüber organischen Säuren festgestellt wurden (15). Während durch Hemmung des Tricarbonalsäurezyklus mit Hilfe von Hemmstoffen zumindest das Myzelwachstum von *Phytophthora* im Gewebe kaum beeinflußt wird, kann durch Infiltration einzelner diesem Zyklus angehöriger Säuren sowohl das Verhalten anfälliger als auch das resistenter Kartoffelgewebe verändert werden.

Auf anfälligem Gewebe wird die anfängliche Myzelentwicklung an der Oberfläche deutlich beschleunigt und verstärkt. Auf resistentem Kartoffelgewebe wird eine Myzelentwicklung in den ersten Tagen nach der Infiltration in mittlerer Stärke ermöglicht; die geringe Eindringungstiefe des Pilzes deutet darauf hin, daß die durch den Eingriff gestörte Reaktionslage nach verhältnismäßig kurzer Zeit normalisiert wird oder in tieferen Gewebsschichten überhaupt nicht zur Auswirkung kommt.

Eine gewisse und auf Grund der vorliegenden Tatsachen nicht befriedigend erklärbare Ausnahmestellung scheint die Brenztraubensäure einzunehmen, bei welcher die Verschiebung der Reaktionslage resistenten Gewebes erst verspätet eintritt. Hierzu sei noch darauf hingewiesen, daß in einem Vorversuch mit Kartoffelscheiben Brenztraubensäure auf anfälligem und resistentem Gewebe eine Pilzmyzelentwicklung nicht zuließ. Möglicherweise sind es hier Umsetzungsprodukte der infiltrierten Säure, welche erst die Reaktion auslösen. Jedoch auch dann ist die auffällige Verspätung der Wirkung nicht ohne weiteres erklärlich. In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, daß Infiltration von Natriumfluorid in anfälligem Kartoffelgewebe ebenfalls die Reaktionslage verändern kann. Während die Einwirkung von Natriumfluorid auf resistentes Gewebe in erster Linie als Beeinflussung der Oxydasen (vgl. S. 157) gedeutet wurde, dürfte die Einwirkung auf anfälliges Gewebe auf eine Beeinflussung der Enolasen in Gegenwart von Phosphat zurückzuführen sein, also auf eine Hemmung der glykolytischen Brenztraubensäurebildung. Dies äußert sich weniger in einer allgemeinen Hemmung der Myzelentwicklung, als in der Unregelmäßigkeit des Eindringens in tiefere Schichten.

Eine überzeugende Deutung der Infiltrationsversuche mit organischen Säuren läßt sich heute noch nicht geben. Es können nur Deutungsmöglichkeiten aufgezeigt werden. Eine solche wäre: Anreicherung energiereicher Phosphatverbindungen, deren Bildung zum Teil mit dem Tricarbonsäurezyklus gekoppelt ist; eine andere die schon eingangs ins Auge gefaßte Veränderung des intermediären Wasserstoffangebotes und die dadurch bedingte Beeinflussung der Endoxydasen. Wir halten die zweite Möglichkeit vorerst für wahrscheinlicher, jedoch kann hierzu erst Stellung genommen werden, wenn weitere, bereits eingeleitete Versuche zu Ende geführt sind.

Die Diskussion unserer Ergebnisse im Zusammenhang mit dem Problem der Sortenresistenz muß auf der Feststellung von K. O. Müller aufbauen, daß Resistenzunterschiede auf Unterschieden in der Geschwindigkeit der vom Pathogen induzierten Reaktion beruhen, wobei in erster Linie — wie schon

einleitend bemerkt — an das Polyphenoloxydasesystem zu denken ist. Unterschiede in der Geschwindigkeit der von diesem System katalysierten Reaktionen können begründet sein:

1. in unterschiedlicher Konzentration oder Aktivität des Fermentes selbst,
2. in Unterschieden des Gehaltes an oxydierbaren Phenolkörpern,
3. in unterschiedlicher Sauerstoffaktivität am Reaktionsort und
4. in unterschiedlicher Wasserstoffaktivität der Donatoren.

Zu 1: Präformierte Unterschiede verschiedener Sorten in der Menge oder Aktivität von Fermenten könnten mit dem Resistenzgrad gegenüber einem spezialisierten Erreger in unmittelbaren Zusammenhang gebracht werden. Diese Deutung muß aber versagen, sobald die Wirtssorten gegenüber verschiedenen physiologischen Rassen des Erregers reziprokes Verhalten zeigen. Entsprechende Untersuchungen für Kartoffelknollen liegen nicht vor.

An Kartoffelblättern wurde von RUBIN und Mitarbeitern (37) die Veränderung der Polyphenoloxydaseaktivität durch Infektion mit *Phytophthora* näher untersucht und gezeigt, daß eine resistente Sorte auf die Infektion durch eine stärkere Erhöhung der Polyphenoloxydaseaktivität reagiert als eine anfällige. Es ist wenig wahrscheinlich, daß eine solche Veränderung auf einer effektiven Vermehrung des Enzymgehaltes beruht. Verständlicher wäre die Annahme, daß durch einen uns noch unbekannten toxischen Einfluß des Parasiten eine Aktivierung des Fermentsystems erfolgt.

Unter diesen Voraussetzungen nimmt es nicht Wunder, daß auch ein Tastversuch zur Feststellung von Unterschieden der Polyphenoloxydaseaktivität im Knollengewebe verschiedener resistenter Sorten keinen Erfolg brachte. Allerdings muß die Möglichkeit offengelassen werden, daß das Ausmaß einer induzierten Aktivitätssteigerung durch Unterschiede im Gehalt an inaktiven prostethischen Gruppen liegen kann.

Zu 2: Substrate der Polyphenoloxydase sind Phenolkörper, unter welchen den im Pflanzenreich weitverbreiteten o-Dioxyphenol-Verbindungen eine besondere Bedeutung für das Resistenzproblem zugeschrieben werden (42). Bei ausgeglichenem Stoffwechsel werden diese durch das Fermentsystem in chinoide Formen übergeführt, welche als Wasserstoffakzeptoren unter Rückbildung des Dioxyphenols wirken. Die Normalreaktion ist reversibel (36). Wenn im Verhältnis zu der aktiven Fermentmenge und der Sauerstofftension zu wenig Wasserstoff verfügbar ist, kann die fermentative Oxydation oder vielleicht auch eine nicht fermentative Kondensation der primären „Chinone" zu irreversibler Bildung jener „gerbstoffartigen" Stoffe führen, welche als mutmaßliche Resistenzfaktoren diskutiert werden. Aus dieser Überlegung folgt, daß eine natürliche (oder künstliche) Erhöhung der Substratmenge (vgl. S. 165) je nach den Bedingungen sich verschieden auswirken muß. Unter kompensierten Bedingungen führt Substratzufuhr zu einer Umsatzsteigerung und Erhöhung der Atmung (10), in dekompensierten Systemen zu verstärkter Anhäufung irreversibel oxydierter Produkte, also im Sinne der eingangs erwähnten Theorien zu verstärkter „Resistenz". Es ist wohl die Folge dieser Konkurrenz zweier Reaktionsmöglichkeiten, daß in unseren Versuchen die

Zufuhr von Phenolsubstraten nur eine relativ schwache und kurzfristige „Resistenzsteigerung" mit sich brachte. Können aber Unterschiede des Gehaltes an Phenolkörpern für sich allein Sortenunterschiede bedingen? Die bisher zu dieser Frage vorliegenden Untersuchungen sind nicht überzeugend und können vor allem nicht rassenspezifische Unterschiede unmittelbar deuten.

Da die natürliche Genese der Phenolsubstrate kaum bekannt ist, bleibt offen, daß neben einer Fermentaktivierung durch Infektion auch durch andere Eingriffe in den Stoff- und Energiehaushalt zusätzliche Bildung oder Freisetzung von solchen Substraten möglich ist. Derartige Bilanzuntersuchungen liegen nicht vor. Aus Versuchen von Rubin und Mitarbeitern (37) am Kartoffelblatt läßt sich lediglich die stärkere Zunahme löslicher und unlöslicher Polyphenole und Gerbstoffe nach Infektion einer resistenten Sorte im Vergleich zu einer anfälligen feststellen.

Zu 3: Über die Abhängigkeit der Endoxydaseaktivität von der Sauerstofftension und des Verlaufs der hier studierten „Resistenzreaktionen" sind uns keine Untersuchungen bekannt. Eigene Tastversuche, Sauerstoff durch Infiltration von Wasserstoffsuperoxyd zuzuführen, gaben kein eindeutiges Ergebnis. Gegen eine Abhängigkeit sprechen die Infiltrationen mit Wasser, bei denen Luft aus dem Gewebe entfernt und dadurch der Sauerstoffgehalt der Interzellularen weitgehend herabgesetzt wird. Diese Versuche beeinflußten die Reaktionslage ebenfalls nicht. Erbliche Resistenzunterschiede können auch kaum durch Unterschiede der Sauerstofftension im Gewebe befriedigend erkannt werden.

Zu 4: Polyphenoloxydase und andere Endoxydasen entnehmen bei kompensiertem Reaktionsverlauf dem vorausgehenden Stoffwechselplan Wasserstoff. Die Wasserstoffaktivität muß von der Leistungsfähigkeit der vorgeschalteten Redoxsysteme abhängen, die Umsatzgeschwindigkeit auch von dem Wasserstoffangebot. Ist diese zu gering, unterbleibt die Rehydrierung der chinoiden Körper, und es tritt die als Resistenzreaktion angesehene Dekompensation der Endoxydation ein. Wenn in resistentem Gewebe durch den Pilzangriff ein solches Minderangebot an Wasserstoff hervorgerufen wird, müßte eine Verstärkung der Wasserstoff liefernden Prozesse resistensmindernd wirken. Die durch Infiltration von Säuren des Trikarbonsäurezyklus bedingte Herabsetzung der Resistenz spricht für diese Deutung, welche allerdings durch weitere Untersuchungen noch unterbaut werden muß.

Während sich das oft gegensätzliche Verhalten ein und desselben Kartoffelgewebes gegen verschiedene Rassen eines Pilzes auf Grund unterschiedlichen Ferment- oder Substratgehaltes kaum erklären läßt, ergeben sich aus der zuletzt entwickelten Vorstellung brauchbare Deutungsmöglichkeiten, wenn wir annehmen, daß die verschiedenen Rassen in verschiedenen Phasen des Intermediärstoffwechsels angreifen bzw. diese durch parasitogene Toxine hemmen. Spezifische Resistenzunterschiede wären dann auf unterschiedliche Empfindlichkeit der jeweils betroffenen Stoffwechselphasen gegen parasitogene Angriffe zu erklären, ohne daß Unterschiede im Verlauf der weiteren

endoxydatischen Resistenzreaktion gesucht werden müßten. Versuche in dieser Richtung sind eingeleitet.

Stellen wir unter den hier entwickelten Gesichtspunkten die Reaktionsweise resistenter und anfälliger Gewebe einander gegenüber, so ergibt sich: Als Folge des seiner Natur nach unbekannten Primäreffekts durch den Parasiten tritt Dekompensierung der Endoxydasesysteme ein, wie schon auf Grund zahlreicher anderer Untersuchungen vermutet wurde. Je rascher und intensiver dies erfolgt, um so eher werden fungistatische Stoffe angereichert und der eindringende Pilz zum Absterben gebracht. Hierfür spricht unter anderem, daß in unseren Versuchen sich zwar ähnlich wie in früheren Untersuchungen ein gewisser Zusammenhang mit der Verbräunungsgeschwindigkeit und der Resistenz zeigte, daß aber die Intensität der Gewebsverfärbungen, welche weitgehend durch die Art der Behandlung beeinflußt werden kann, keinerlei Zusammenhang zwischen der Fruktifikationsintensität des Pilzes zeigte.

In den bisherigen Betrachtungen wurde das Reaktionsgeschehen im Wirt in den Vordergrund gestellt und nur seine Folgen auf die Lebens- und Ausbreitungsfähigkeit des Parasiten erwähnt. Dies ist für die Betrachtung der Endoxydasen angängig, da wir mit ziemlicher Sicherheit annehmen, daß Oxydationsprodukte nur vom Wirt gebildet werden. *Phytophthora* war nicht in der Lage, dem Nähragar zugegebenes Brenzkatechin in braun gefärbte Substanzen umzuwandeln. Anders liegen die Dinge bei Beeinflussung des Tricarbonsäurestoffwechsels, wenigstens in jenen Fällen, in welchen dem Pilz Wachstum im Kartoffelgewebe möglich ist. Wir wiesen schon darauf hin, daß einzelne Glieder des Tricarbonsäurezyklus als spezifische Nährstoffe wirken und von bestimmten Rassen des Pilzes verwendet werden können; andere Stoffe des Tricarbonsäurezyklus haben jedoch offenbar Hemmwirkung (15). In unseren bisherigen Plattentesten zeigte allerdings eine Zufütterung dieser Säuren zur Glukose auf dem verwendeten Nährboden in keinem Falle eine fördernde Wirkung auf den Pilz.

Wir sind uns des hypothetischen Charakters der vorausgehenden Erörterung wohl bewußt. Es wurde nur eine, wenn auch die am meisten erörterte, stoffwechselphysiologische Grundlage der Resistenzreaktion bearbeitet und diskutiert. Es bleibt offen, ob neben dem hier behandelten Reaktionsmechanismus noch andere Reaktionen am Resistenzphänomen beteiligt sind. Auf solche Möglichkeiten deuten die in der Literatur erörterten Zusammenhänge zwischen Resistenzerscheinungen und dem Gehalt an Peroxydasen (21) und an bestimmten Aminosäuren (3). Vorerst ist allerdings gegen diese Untersuchungen an nichtinfizierten, ungeschädigten Pflanzen unterschiedlichen Resistenzgrades der Einwand berechtigt, daß sie gegensätzliche Reaktionen ein und desselben Wirtes gegen verschiedene physiologische Rassen nicht erklären können. Im Zusammenhang mit den hier erörterten Veränderungen des Grundumsatzes der Pflanzengewebe als Folge von Infekten kommt aber

Veränderungen des Eiweißstoffwechsels und anderen Stoffwechselprozessen sicher noch eine wesentliche Bedeutung zu, welche im Rahmen unserer bisherigen Untersuchungen nicht erfaßt werden konnte. Denn die Tatsache, daß das Verhalten eines Gewebes gegen eine Pilzinfektion durch unspezifische (Temperatur, Alkoholnarkose) oder durch mehr oder weniger spezifische Eingriffe abgewandelt werden kann, sagt noch nichts darüber aus, warum ohne solche Eingriffe die intermediären, zur Resistenz führenden Reaktionen in der einen Sorte langsamer, in der anderen rascher ablaufen. Die hier vorgelegten Untersuchungen behandeln nur einen Reaktionsmechanismus und sind vor allem auf diejenigen Phasen beschränkt, welche u. E. weitgehend unspezifisch verlaufen. Die bisher bekannten Unterschiede der Geschwindigkeit dieser Reaktion können u. E. nicht der letzte Grund für art- und rassenspezifische Reaktionsweisen verschiedener Wirt-Parasitpaare sein. Dieser muß vielmehr tiefer liegen.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, durch Infiltration spezifischer Fermenthemmstoffe und spezifischer Fermentsubstrate in Knollen unterschiedlicher Kartoffelsorten die Nekrotisierungsreaktion der Kartoffel gegen *Phytophthora infestans* zu beeinflussen. Ausgewählt wurden die Sorten Aquila und Erdgold unter dem Einfluß von *Phytophthora infestans*, physiologische Rasse A.

Hierbei zeigte sich:

1. Eine Hemmung der Polyphenoloxydase durch Natriumazid, Phenylurethan, Natriumfluorid, Kaliumcyanid, Natriumdiäthyldithiocarbamat, p-Nitrophenol, Thioharnstoff und Salicylaldoxim sowie Kupferron ermöglicht *Phytophthora*-Fruktifikation und Ausbreitung in der resistenten Sorte Aquila.
2. Die Substrate der Polyphenoloxydase, Protocatechusäure und Chlorogensäure unterdrücken Sporulation und Wachstum des Pilzes in der anfälligen Sorte Erdgold.
3. Die atmungshemmenden Substrate Brenzcatechin und Tyrosin fördern die Entwicklung von *Phytophthora* in der resistenten Knolle.
4. NaF, als Hemmstoff der Enolase, setzt Fruktifikationsgrad und Eindringungsvermögen von *Phytophthora* auf einer anfälligen Sorte herab, fördert dagegen das Pilzwachstum auf „Aquila".
5. Eine Hemmung des Tricarbonsäurekreislaufs durch Malonsäure und Malachitgrün unterdrückt eine Fruktifikation des Pilzes auf „Erdgold"; er kann jedoch alle Teile der Knolle besiedeln.

6. Brenztraubensäure-, Bernsteinsäure-, Äpfelsäure- und Fumarsäureinfiltration ermöglichen Sporangienbildung auf einer resistenten Sorte und fördern die Fruktifikation auf „Erdgold",

7. Im Anschluß an die Versuchsergebnisse wird die Bedeutung des Intermediärstoffwechsels für das Resistenzproblem erörtert.

Literaturverzeichnis

1. ALLEN, P. J., 1953: Toxins and tissue respiration. Phytopathology **43**, 221—228.
2. — —, 1954: Physiological aspects of fungus diseases of plants. Ann. Rev. of Plant Phys. **5**, 225—248.
3. ALTEN, F. und ORTH, H., 1941: Untersuchungen über den Aminosäuregehalt und die Anfälligkeit der Kartoffel gegen die Kraut- und Knollenfäule (*Phytophthora infestans* DE BY.). Phytopath. Z. **13**, 243—271.
4. BAKER, D. and NELSON, H., 1943: Tyrosinase and plant respiration. J. Gen. Physiol. **26**, 269—276.
5. BEHR, L., 1949: Über den Einfluß von narkotisch wirkenden Stoffen auf die Wundperidermbildung und Resistenz der Kartoffelknolle gegenüber *Phytophthora infestans* DE BY. und Vertretern der Gattung *Fusarium* Lk. Phytopath. Z. **15**, 407—446.
6. BANGA, J. und PHILIPPOT, E., 1938: Über die Dioxymaleinsäureoxydase. Z. physiol. Chem. **258**, 147—159.
7. BLACK, W., 1952: A genetical basis for the classification of strains of *Phytophthora infestans*. Proc. roy. Soc. Edinburgh **65**, 36—51.
8. BONNER, J., 1950: Plant Biochemistry. N. Y.
9. BOSWELL, H. G. and WHITING, G. C., 1938: A study of the polyphenoloxidasesystems in potato tubers. Ann. Bot. N.S. **2**, 847—863.
10. BOSWELL, J. G., 1950: Metabolic systems in the root of *Brassica napus* L. Ann. of Bot. N.S. **14**, 521—534.
11. CALDWELL, J. and MEIKLEJOHN, J., 1937: Observations on the oxygen uptake of isolated plant tissue. II. The effect of inhibitors. Ann. Bot. N.S. **I**. 487—498.
12. DETTWEILER, CH., 1952: Zusammenhänge zwischen Austreiben und Atmung bei der Kartoffelknolle. I. Die Hemmung des Austreibens durch Fermentinhibitoren, insbesondere Urethane. Planta **41**, 214—239.
13. DUFRÉNOY, J.: Étude cytologique relative à la résistence des plantes aux maladies. Problèmes Agricoles. 2e Fasc. Publié à l'occasion du Cinquantenaire de l'Institut National Agronomique. Zit. n. 27.
14. EBERHARD, F., 1952: Ezymgifte. Z. Bot. **40**, 332—339.
15. FRENCH, A. M., 1953: Physiologic differences between the physiologic races of *Phytophthora infestans*. Phytopathology **43**, 513—516.
16. FREUDENBERG, K., 1920: Über Gerbstoffe: Chlorogensäure, der gerbstoffartige Bestandteil der Kaffeebohnen. Ber. dtsch. chem. Ges. **53**, 232—250.
17. FUCHS, W. H. und KOTTE, E., 1954: Zur Kenntnis der Resistenz von *Solanum tuberosum* gegen *Phytophthora infestans* DE BY. Z. Naturwissensch. **41**, 169—170.
18. GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel.

19. Grechuschnikow, A. J., 1939: Role of Peroxydase in immunity against *Phytophthora infestans* de Bary. O. v. Ac. Sci. UdSSR **25**, 683—684.

20. Johnson, G. and Schaal, L. A., 1952: Relation of chlorogenic acid to scab resistance in potatoes. Science **115**, 627—629.

21. Kamermann, N., 1951: Undersöknungar rörande Potatisbladmoglet. *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. II. Sambandet mellan potatisbladsaftens peroxidase-aktivitet och *Phytophthora resistensen.* Stat. Vördskydsanst. Meddelande **58**, 3—32.

22. Kostytschew, S. und Soldatenkov, S., 1927: Brenztraubensäure und Methylglyoxal als Zwischenprodukt der Milchsäuregärung. Z. physiol. Chem. **168**, 124—127.

23. Kröner, W. und Völksen, W., 1950: Die Kartoffel: Die wichtigsten Eigenschaften der Knolle als Lebensmittel und Rohstoff. Leipzig.

24. Lakon, G., 1942: Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit der Getreidefrüchte durch Tetrazoliumsalze. Ber. dtsch. Bot. Ges. **60**, 299—305, 334—444.

25. Levy, H. and Schade, A. L., 1948: Terminal oxidase system of potato tuber respiration. Arch. of Biochem. **19**, 273—286.

26. Mc.Carthy, J. J., Green, L. F. and King, C. G., 1939: The substrate specifity and inhibition characteristics of two copper-protein „oxidases". J. biol. Chem. **128**, 455—468.

27. Meyer, G., 1939: Zellphysiologische und anatomische Untersuchungen über die Reaktion der Kartoffelknolle auf den Angriff der *Phytophthora infestans* bei Sorten verschiedener Resistenz. Arb. biol. Reichsanst. **23**, 97—132.

28. Müller, K. O., 1931: Über die Entwicklung von *Phytophthora infestans* auf anfälligen und widerstandsfähigen Kartoffelsorten. II. Untersuchungen über die Kartoffelkrautfäule und die Biologie ihres Erregers. Arb. biol. Reichsanst. **18**, 465—505.

29. — —, Meyer, G. und Klinkowski, M., 1939: Physiologisch-genetische Untersuchungen über die Resistenz der Kartoffel gegenüber *Phytophthora infestans.* Naturwissensch. **27**, 756—768.

30. — — und Börger, H., 1941: Experimentelle Untersuchungen über die *Phytophthora*-Resistenz der Kartoffel. Zugleich ein Beitrag zum Problem der erworbenen Resistenz im Pflanzenreich. Arb. biol. Reichsanst. **23**, 189—231.

31. — — und Griesinger, R., 1942: Der Einfluß der Temperatur auf die Reaktion von anfälligen und resistenten Kartoffelsorten gegenüber *Phytophthora infestans.* Angew. Bot. **24**, 130—149.

32. Newton, R. and Anderson, J. A., 1929: Studies on the nature of rust resistance in wheat. Can. J. of Res. **1**, 1—14.

33. Paech, K., 1951: Stoffwechsel organischer Verbindungen II. Fortschr. Bot. **13**, 269 bis 296; 1954, **15**, 313—347.

34. — — und Ruckenbrod, H., 1953: Die Bestimmung von Chlorogensäure im Pflanzenmaterial. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 76—79.

35. Richter, D., 1934: The action of inhibitors of the catechol oxidase of potatoes. Biochem. J. **28**, 901—908.

36. Robinson, E. S. and Nelson, J. M., 1944: The tyrosine-tyrosinase reaction and aerobic plant respiration. Arch. Biochem. **4**, 111—117.

37. Rubin, B. A. und Arzichowskaja, E. W., 1953: Biochemische Charakteristik der Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegenüber Mikroorganismen. Berlin.

38. Rudorf, W. und Schaper, P., 1951: Grundlagen und Ergebnisse der Züchtung krautfäuleresistenter Kartoffelsorten. Z. f. Pflanz.züchtg. **30**, 29—88.

39. Schade, A. L., Bergmann, L. and Byer, A., 1948: Preliminary investigation of the endogenous respiration of potatoeslices and catechol oxidase activity. Arch. Biochem. **18**, 85—96.

40. — — and Levy, H., 1949: Changes in the terminal oxidase pattern of potato tissue associates with time of suspension in water. Arch. Biochem. **20**, 211—219.

41. Schick, R. und Lehmann, H., 1936: Zur physiologischen Spezialisierung von *Phytophthora infestans*. Züchter **8**, 34—46.

42. Szent-Györgyi, A. und Vietorisz, K., 1931: Bemerkungen über die Funktion und Bedeutung der Polyphenoloxydase der Kartoffel. Biochem. Z. **233**, 236—239.

43. — —, 1938: Über die dehydrierende Autoxydation und die biologichen Oxydationen. Z. physiol. Chem. **254**, 147—206.

44. Tenenbaum, E. and Jensen, H., 1943: Catecholase (Tyrosinase): Reversible inactivation and reactivation. J. biol. Chem. **147**, 27—31.

45. Warburg, O., 1946: Schwermetalle als Wirkstoffe von Fermenten. Berlin.

Institut de Botanique générale, Université de Genève
Directeur: Prof. Dr. F. Chodat

Recherches sur l'action de l'acide borique sur la fructification des *Sordaria*

par

G. Turian

Lors d'une étude préliminaire, nous avions observé l'action inhibitrice exercée par des doses relativement faibles d'acide borique ($^1/_{10\,000}$ à $^1/_{20\,000}$) sur la différenciation des ascospores chez un *Sordaria* sp. isolé par nous (Turian, 1954).

Mais, au cours d'essais ultérieurs, il est devenu de plus en plus évident que la teneur trop élevée en glucides (2 % glucose — 2 % amidon soluble) de notre milieu était responsable pour une forte part de l'avortement des ascospores. Bien plus, nous avons alors trouvé qu'il faut ajouter un supplément de biotine aux cultures pour obtenir des périthèces témoins normalement ascosporés. Ces observations confirment d'ailleurs les beaux travaux de Hawker (1936—1951) démontrant l'importance du rapport glucides/facteurs de croissance pour la fructification normale de nombreux Champignons parmi lesquels *Sordaria destruens* (Shear) Hawker et *Sordaria fimicola* Ces. et de Not.

Nous avons alors entrepris une nouvelle série de recherches afin de préciser la responsabilité de l'acide borique dans l'avortement des ascospores dans les asques de *Sordaria*.

Pour ces essais, nous avons utilisé un isolement monosporé de la souche de *Sordaria sp.* que nous avions obtenue d'un sol du vignoble vaudois (Pully près de Lausanne; Turian, 1954). Cette souche présente des caractères microscopiques qui l'apparentent sinon l'identifient au *Sordaria macrospora* Auersw. (Moreau, 1953): périthèces, 450 × 350 μ en moyenne; ascospores 22—27 μ 17—20 μ, sur milieu glucose 2 % — extrait de levure décrit plus

bas. Malgré certaines analogies de ses caractères culturaux (aspect hyalin du mycélium) et de sa réaction à l'acide borique avec ceux de *Sordaria humana* (Fuck.) Wint., nous considérerons notre souche comme une variété de *Sordaria macrospora* Auersw.

Lors d'un premier essai, nous avons utilisé le milieu suivant: $MgSO_4$, 0,5; KH_2PO_4, 1,0; extrait de levure (Difco), 4,0; gélose, 20,0; H_2O distillée ad 1 litre; glucide, nature et dose selon tableau ci-dessous, en absence ou en présence de H_3BO_3 puriss. $^1/_{20\,000}$. Les cultures, à raison de 4 tubes à essai par cas, ont été placées à l'étuve réglée à 24° C. Voici les résultats, obtenus par observation microscopique des asques et appréciation arbitraire de leur degré de différenciation ascosporale:

Glucides		H_3BO_3	Différenciation ascospores*) après	
% Glucose	% Amidon		7 j.	10 j.
1	–	–	++	++++
1	–	$^1/_{20\,000}$	+	++++
2	–	–	+	++++
2	–	$^1/_{20\,000}$	0	+++
2	2	–	0	+
2	2	$^1/_{20\,000}$	0	0
4	–	–	0	0
4	–	$^1/_{20\,000}$	0	0
–	4	–	++	+++
–	4	$^1/_{20\,000}$	+	++++

*) Estimation d'après le nombre (+ = 2) d'ascospores normalement différenciées (épispore brun noir) dans les asques.

Les résultats consignés dans ce tableau montrent que l'on peut contrôler la différenciation des ascospores en faisant varier la dose de glucose fournie à la Moisissure. D'autre part, l'acide borique à la concentration $^1/_{20\,000}$ n'exerce qu'une faible action inhibitrice. Quant à l'action favorable de l'amidon soluble, comparée au rôle néfaste d'une même dose (4 %) de glucose, elle s'explique par une hydrolyse graduelle de l'amidon en glucose lequel est donc disponible à une dose favorable à la maturation normale des ascospores. A noter, enfin, l'effet stimulant sur cette maturation de l'acide borique en présence d'amidon seul.

Afin d'améliorer et d'accélérer l'utilisation de la glucose et d'éviter ainsi l'avortement des ascospores observé lors du premier essai, nous avons enrichi le milieu en biotine. En présence de ce facteur de croissance (quantité additionnelle de celle déjà apportée par l'extrait de levure), l'utilisation de la glucose est meilleure (HAWKER, 1950) et ne conduit plus à l'accumulation dans les cellules de produits intermédiaires de la glycolyse (acides organiques

probablement) nuisibles à la bonne marche de la différenciation. Voici les résultats de ce second essai, réalisé dans les mêmes conditions que le premier:

% Glucose	% Amidon	Biotine supplémentaire	H_3BO_3	Ascospores différenciées*) après 7 j.
2	2	–	–	0
2	2	–	$^1/_{20\,000}$	0
2	2	–	$^1/_{10\,000}$	0
2	2	0,5 mg %	–	+++
2	2	0,5 mg %	$^1/_{20\,000}$	++
2	2	0,5 mg %	$^1/_{10\,000}$	+
4	–	–	–	0
4	–	–	$^1/_{20\,000}$	0
4	–	–	$^1/_{10\,000}$	0
4	–	0,5 mg %	–	++
4	–	0,5 mg %	$^1/_{20\,000}$	+
4	–	0,5 mg %	$^1/_{10\,000}$	0

*) Même méthode d'estimation que pour le tableau précédent.

Cet essai montre donc qu'en diminuant le rapport glucose/facteurs de croissance, par addition d'un supplément de biotine, il est possible d'obtenir une différenciation appréciable des ascospores en présence de doses (4 %) de glucose inhibitrices dans les cultures témoins. D'autre part, l'acide borique est nettement inhibiteur à la concentration $^1/_{10\,000}$e. Cet agent chimique exerce en ce sens une action contraire à celle de la biotine. En sa présence, la formation des périthèces est nettement réduite dès la dose de $^1/_{10\,000}$e. Un essai comparatif de son action sur les trois souches de *Sordaria* dont nous disposons[1]) montre d'ailleurs que la dose de $^1/_{5000}$e d'acide borique stérilise complètement les cultures. La croissance mycélienne végétative est d'ailleurs également touchée: croissance lente, en „flocons de neige", des hyphes de *Sordaria.*

L'essai comparatif mentionné ci-dessus a été réalisé sur le milieu habituel, au taux de glucose de 2 %, sans biotine supplémentaire. Il nous a en outre permis de confirmer chez *Sordaria humana* l'action antisporulante de l'acide borique au $^1/_{10\,000}$e et d'observer que *Sordaria macrospora* typique est moins sensible à cette action toxique que *Sordaria humana* et que notre variété de *Sordaria macrospora.* Il a, en effet, pu constituer un nombre important d'asques normaux à 8 ascospores en présence de $^1/_{10\,000}$e d'acide borique. La dose de $^1/_{5000}$e l'a cependant complètement stérilisé aussi.

Afin de préciser les modalités de l'action antisporulante de l'acide borique chez *Sordaria*, il était nécessaire de cultiver le Champignon sur milieu synthétique.

[1]) *Sordaria humana* (Fuck.) Wint. et *Sordaria macrospora* Auersw. nous ont été aimablement remis par Mme Nicot, au nom de M. Claude Moreau du Museum d'Histoire naturelle de Paris. Nous tenons à les en remercier ici.

Divers essais préliminaires nous avaient prouvé que notre souche de *Sordaria macrospora* n'est déficiente que pour la biotine. Elle se comporte donc comme le *Sordaria fimicola* utilisé par BARNETT et LILLY (1947) et, contrairement aux *Sordaria* sp. cultivés par HAWKER (1951), n'exige pas d'aneurine.

Nous avons donc pu faire usage du milieu de Fries préconisé par BEADLE (1944) pour la culture de *Neurospora*. Nous l'avons légèrement modifié en remplaçant le phosphate monopotassique par du bipotassique afin de tenter de remédier a une acidification progressive du milieu, nuisible à la formation des périthèces (LILLY et BARNETT, 1947). Voici la composition du milieu de FRIES modifié:

$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	0,5	F
K_2HPO_4	1,0	F
NH_4NO_3	1,0	F
NaCl	0,1	F
Elément traces*)	1 cm³	F
Tartrate d'NH_4	5,0	F
Glucose	20,0	F
Biotine	10 γ	F
Gélose	20,0	F
H_2O distillée	ad 1 l.	F
$CaCO_3$	1,0	Ca
H_3BO_3 stérilisé et ajouté à part ad concentration	1/10 000	B

*) B 10 mg, Mo 20 mg, Fe 200 mg, Cu 100 mg, Mn 20 mg, Zn 200 mg, H_2O distillée 1 litre.

Une culture de *Sordaria macrospora* (souche Pully) sur milieu F-Ca nous a servi à inoculer 4 tubes à essais de chacune des combinaisons suivantes: F, F-Ca, F-B, F-Ca-B. Voici nos observations macro- et microscopiques, après 20 jours de culture à 24° C:

F (pH départ = 6,3): n périthèces, seulement au niveau d'un massif de mycélium aérien. Ascospores noires éjectées contre la paroi des tubes.

F-B (pH départ = 6,3): croissance mycélienne environ égale à celle sur F mais pas de périthèces.

F-Ca (pH départ = 6,8): n périthèces répartis sur toute la surface mycélienne; ascospores noires éjectées.

F-Ca-B (pH départ = 6,8): 3—5 périthèces de taille normale sur le mycélium rampant; petits périthèces abortifs dans le mycélium aérien (contre parois éprouvettes); primordia abortifs. L'écrasement des périthèces apparemment normaux révèle des rosettes d'asques avortés; rares ascospores plus ou moins bien différenciées, souvent de taille anormale; observé par exemple un asque renfermant 2 ascospores géantes remplies de gouttelettes d'huile. Cette formation de spores géantes chez *Sordaria* n'est

pas sans présenter certaines analogies avec la formation de gamètes géants dans les gamétanges d'*Allomyces* traités par l'acide borique (Turian, 1955).

Ajoutons que les 4 types de cultures produisent un abondant pigment noir mélanique au niveau du mycélium rampant. Mais plus important pour nous est la libération dans le milieu, par les seules cultures boriquées, d'un pigment jaune vif que nous avions déjà observé lors de la culture de *Sordaria* en milieu liquide à base de glucose — extrait de levure — H_3BO_3 $^1/_{5000}$. Dans un tel milieu, le filtrat était devenu jaune intense après 28 jours de culture. Nous retrouvons là l'équivalent de la borocitrine, pigment jaune décrit par Kuhn (1943) chez des *Penicillium* cultivés en présence d'acide borique.

En nous basant sur les travaux de Lohrmann (1940), nous avons tenté de lever l'inhibition borique par une surcharge du milieu de Fries (F-B) en $MgSO_4$ (0,5 et 1 %). Mais alors que les témoins F-$MgSO_4$ 1 % présentaient n périthèces mûrs, les cultures F-$MgSO_4$ 1 %-H_3BO_3 $^1/_{5000}$ sont restées stériles.

En résumé, il ne semble pas qu'un antagonisme Ca-B (voir plus haut) ou Mg-B soit responsable de l'action antisporulante de l'acide borique.

Jusque là, nous ne nous sommes préoccupés que des effets toxiques et subtoxiques de l'acide borique chez *Sordaria*. C'est d'ailleurs le seul aspect qu'ont envisagé la majorité des chercheurs. Il suffit de rappeler les travaux de Boeseken et Waterman (1912), Moyer et coll. (1940), Knight et Frazier (1945) sur les *Penicillium* et *Aspergillus*, de Schmucker (1935) sur *Phycomyces*, de Schnegg et Weigand (1936) sur les Levures, de Yogeswari (1948) sur *Fusarium* sp., de Lohrmann (1940) sur plusieurs Moisissures (Mucorales surtout), de Turian (1954) sur *Allomyces*. Quelques auteurs ont cependant noté un effet favorable du Bore dans certaines conditions. Signalons l'intéressant travail de Davis et coll. (1928) sur *Dothiorella* ainsi que les notes de Pirschle (1935) sur *Aspergillus* et de Niethammer (1940) sur *Trichoderma Koningi* et *Penicillium expansum*. Enfin, d'autres auteurs, parmi lesquels Steinberg (1945) avec *Aspergillus niger* et Winfield (1945) avec *Penicillium glaucum* et *Aspergillus niger*, ont montré que ces Moisissures ne nécessitent pas de Bore pour leur développement.

L'examen des travaux, parfois contradictoires, cités plus haut, et l'idée que le principe de l'inversion des effets biologiques pourrait aussi s'appliquer au cas de l'action de l'acide borique, nous ont incité à étudier l'action de doses plus faibles de cet acide sur *Sordaria*. La susceptibilité particulière des organes reproducteurs de *Sordaria* à l'égard de doses relativement faibles d'acide borique ($^1/_{5000}$—$^1/_{20\,000}$) laissait prévoir un éventuel effet stimulant sur ces mêmes organes à de plus faibles doses d'acide borique. C'est d'ailleurs ce que les essais préliminaires rapportés ci-dessous ont confirmé.

Nous avons utilisé le milieu de Fries détaillé plus haut mais modifié ainsi (solution FS): suppression du tartrate d'NH_4 (source d'éventuels contaminants minéraux) mais NH_4NO_3 porté à 2 g./l.; remplacement du glucose par le saccharose 2 % — pour tenir compte du fait que le Bore forme avec

le saccharose un complexe ionisable traversant plus facilement les membranes végétales (GAUCH et DUGGER, 1953) — et remplacement de la biotine par 50 mg par litre d'extrait de levure Difco. Du $CaCl_2$ à 0,1 g./l. a été ajouté comme dans le milieu-type de FRIES. La concentration des éléments traces n'a pas été modifiée mais B a évidemment été supprimé.

Ce milieu FS a été distribué dans 15 erlenmeyers de 150 cm^3 en verre Hysil, à raison de 20 cm^3 par erlenmeyer. Après stérilisation, 5 flacons ont été additionnés de $^1/_{50\,000}$ de H_3BO_3 (à partir d'une solution mère de H_3BO_3 chauffée à plusieurs reprises à 80 ° C pour garantir sa stérilité tout en évitant l'évaporation de l'acide volatil) et 5 autres flacons ont reçu $^1/_{100\,000}$ de H_3BO_3. L'ensemencement a été réalisé à partir d'une suspension d'ascospores.

Après 8 j. de culture à 24 ° C, on peut déjà constater que les cultures boriquées portent, sur un fin mycélium blanc submergé, de nombreux périthèces en voie de maturation; les cultures témoins ne montrent par contre que des ébauches de fructifications immatures.

Les cultures, âgées de 12 jours, ont été filtrées sur Buchner, séchées et pesées sur filtres tarés. Leur poids sec est faible et sans différence significative entre les cas, soit environ 10 mg. Le pH de tous les filtrats (tous limpides et stériles) a été trouvé égal à la valeur 6,2—6,4. Par contre, le nombre des périthèces mûrs (brun foncé) dispersés sur les filtres diffère notoirement:

Témoins	58 ± 12 périthèces
H_3BO_3 $^1/_{100\,000}$	68 ± 20 périthèces
H_3BO_3 $^1/_{50\,000}$	145 ± 35 périthèces

Il résulte donc de cet essai que l'acide borique, à la dose relativement élevée de $^1/_{50\,000}$, stimule nettement la formation des périthèces chez *Sordaria macrospora* (Pully). De plus, un examen des asques formés dans ces conditions a montré qu'ils renferment des ascospores normalement différenciées.

La faible croissance mycélienne obtenue, comparée à l'abondante fructification du Champignon, permette de penser que ce dernier n'est pas dans les conditions optima de développement. Dans ce cas, l'acide borique pourrait avoir simplement favorisé la pénétration et l'utilisation du saccharose, avec comme conséquence une activation des processus sexuels. D'autre part, il faudra répéter cet essai dans d'autres conditions, en faisant varier la source carbonée en particulier et en tenant compte de la nature du verre des flacons. Ce dernier point est de toute importance, si l'on pense à la quantité d'acide borique libérée par le verre dans le milieu de culture. Nous l'avons récemment constaté lorsque nous avons voulu répéter l'essai ci-dessus avec des flacons en Pyrex dont on connaît la forte teneur en B_2O_3. L'effet stimulant d'une dose additionnelle de $^1/_{50\,000}$ de H_3BO_3 fut pratiquement nul car les flacons témoins eux-mêmes accusèrent un nombre important de périthèces (moyenne de 83 par flacon); les cultures boriquées (moyenne de 95 périthèces par flacon) étaient par contre trop riches en acide borique et contenaient en fait une dose subtoxique de cette substance.

Résumé

L'acide borique (doses $^1/_{20\,000}$—$^1/_{5000}$) exerce une action antisporulante chez *Sordaria macrospora* Auersw. (souche Pully, Vaud) cultivé sur un milieu dont le rapport glucose/biotine a pourtant été contrôlé en vue d'une fructification normale du Champignon.

Cette action de l'acide borique se traduit tout d'abord par un avortement des ascospores dans les asques (doses $^1/_{20\,000}$—$^1/_{10\,000}$), ensuite par une inhibition de la formation des périthèces ($^1/_{10\,000}$—$^1/_{5000}$), enfin par un arrêt progressif de la croissance mycélienne ($> {}^1/_{5000}$).

Sur le plan physiologique, l'acide borique se comporte donc en antagoniste de la biotine, facteur indispensable à la croissance et à la sporulation normale de *Sordaria macrospora.*

Sordaria macrospora élabore un pigment jaune, diffusible, en présence de doses antisporulantes d'acide borique.

En milieu synthétique de Fries, une surcharge en $CaCO_3$ est favorable à la fructification de *Sordaria* (effet pH). Cet excès de Ca^{++} n'a pas réduit l'action de l'acide borique, pas plus d'ailleurs qu'un excès de Mg^{++} ($MgSO_4$) dans le même milieu.

De plus faibles doses d'acide borique ($^1/_{50\,000}$ en particulier), ajoutées au milieu de Fries-saccharose, ont stimulé la production des périthèces chez cette souche de *Sordaria macrospora.*

Zusammenfassung

Borsäure (in der Dosis von $^1/_{20\,000}$ bis $^1/_{5000}$) wirkt auf einen Stamm von *Sordaria macrospora* Auersw. antisporulierend auch dann, wenn der Pilz auf einer Nährlösung kultiviert wird, in welcher das Glucose-Biotin-Verhältnis die Fruktifikation ermöglichen würde.

Diese Borsäurewirkung äußert sich zunächst in einer Mißbildung der Ascosporen in den Asci (bei einer Dosis von $^1/_{20\,000}$ bis $^1/_{10\,000}$), darauf in einer Hemmung der Fruchtkörperbildung ($^1/_{10\,000}$ bis $^1/_{5000}$) und schließlich in einer fortschreitenden Behinderung des Myzelwachstums ($> {}^1/_{5000}$).

Physiologisch wirkt also Borsäure wie ein Antagonist von Biotin, welches unentbehrlicher Faktor für Wachstum und regelmäßiges Sporulieren bei *Sordaria macrospora* ist.

Sordaria macrospora produziert einen gelben, diffusiblen Farbstoff, wenn es auf einer Nährlösung mit einer Borsäurekonzentration wächst, welche antisporulierend wirkt.

In der Friesschen synthetischen Nährlösung wirkt ein Überschuß an $CaCO_3$ günstig auf die Fruktifikation von *Sordaria macrospora* (pH-Wirkung). Aber weder der Überschuß an Ca^{++} noch an Mg^{++} (in Form von $MgSO_4$) vermögen die antisporulierende Wirkung von Borsäure zu vermindern.

Niedere Konzentrationen von Borsäure (z. B. $^1/_{50\,000}$) in der FRIESschen Saccharose-Nährlösung vermögen die Bildung von Fruchtkörpern zu stimulieren.

Summary

Boric acid (doses $^1/_{20\,000}$ — $^1/_{5000}$) exhibits an antisporulating effect in a strain (Pully, Vaud) of *Sordaria macrospora* Auersw. on a medium with a ratio glucose/biotin checked for a normal fruiting from the mold.

Such a boric acid effect shows itself at first by a failure in the differentiation of the ascospores in the asci (doses $^1/_{20\,000}$—$^1/_{10\,000}$), then by an inhibition of perithecial formation ($^1/_{10\,000}$—$^1/_{5000}$), at last by a progressive stopping of the mycelial growth ($> ^1/_{5000}$).

On a physiological basis, boric acid so acts as an antagonist of biotin, the latter substance being an indispensable factor for growth and normal sporulation of *Sordaria macrospora*.

When grown on antisporulating concentrations of boric acid, *Sordaria macrospora* elaborates a yellow, diffusible pigment.

In the FRIES synthetic medium, addition of $CaCO_3$ is favorable to the fruiting of *Sordaria* (pH effect). Such an excess of Ca^{++} has not impaired the antisporulating ability of boric acid even not indeed an excess of Mg^{++} ($MgSO_4$) in the FRIES medium.

Lower doses of boric acid (especially $^1/_{50\,000}$) in the FRIES-saccharose medium have stimulated perithecial production by our strain of *Sordaria macrospora*.

Bibliographie

BARNETT, H. L. and LILLY, V. G., 1947: The effects of biotin upon the formation and development of perithecia, asci and ascospores by *Sordaria fimicola* Ces. and De Not. Amer. J. Bot. **34**, 196—204.

BEADLE, G. W., 1944: An inositolless mutant strain of *Neurospora* and its use in bioassays. J. Biol. Chem. **156**, 683—689.

BOESEKEN, J. und WATERMAN, H. L., 1912: Über die Wirkung der Borsäure und einiger anderen Verbindungen auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger*. Folia microbiol., Delft **I**, 17 p.

DAVIS, A. R., MARLOTH, R. H. and BISHOP, C. J., 1928: The inorganic nutrition of the fungi. I. The relation of calcium and boron to growth and spore formation. Phytopathology **18**, 949.

GAUCH, H. G. and DUGGER, W. M. Jr., 1953: The role of boron in the translocation of sucrose. Plant Physiol. **28**, 457—466.

HAWKER, L. E., 1936: The effect of certain accessory growth substances on the sporulation of *Melanospora destruens* and of some other fungi. Ann. Bot., Lond. **50**, 699—717.

— —, 1939: The influence of various sources of carbon on the formation of perithecia by *Melanospora destruens* Shear in the presence of accessory growth factors. Ann. Bot., Lond., N. S. **3**, 455—468.

— —, 1950: Physiology of fungi. University of London Press Ltd.

— —, 1951: Morphological and physiological studies on *Sordaria destruens* (Shear) comb. nov. (syn. *Melanospora destruens*), *Sordaria fimicola* and *Melanospora zamiae*. Trans. British Mycol. Soc. **34**, 174—186.

Knigth, S. G. and Frazier, W. C., 1945: Response of *Penicillium* to borate. J. Bact. **50**, 505.
Kuhn, R., 1943: Biological significance of boric acid. Chem. Ztg. Wien **46**, 1—9.
Lilly, V. G. and Barnett, H. L., 1947: The influence of pH and certain growth factors on mycelial growth and perithecial formation by *Sordaria fimicola*. Amer. J. Bot. **34**, 131—138.
Lohrmann, W., 1940: Untersuchungen über die antagonistische Wirkung von Magnesium gegenüber Bor und Quecksilber bei einigen Pilzen. Arch. Mikrobiol. **11**, 329—367.
Moreau, Cl., 1953: Les genres *Sordaria* et *Pleurage*. Leurs affinités systématiques. Paul Lechevalier, édit., Paris.
Moyer, A. J., Umberger, E. J. and Stubbs, J. J., 1940: cité par Zittle, Ch. A., 1951: Reaction of borate with substances of biological interest. Adv. in Enzymol. **12**, 493—527.
Niethammer, A., 1940: Verhalten mikroskopischer Bodenpilze gegenüber in der Natur verbreiteten Wuchsstoffen. Arch. Mikrobiol. **11**, 73.
Pirschle, K., 1935: Planta **23**, 264 et 649 (cité par W. Lohrmann, 1940).
Schmucker, Th., 1935: Planta **23**, 264 (cité par W. Lohrmann, 1940).
Schnegg, H. und Weigand, K., 1936: Centralbl. f. Bakt. II, **95**, 154 (cité par W. Lohrmann, 1940).
Steinberg, R. A., 1945: Use of microorganisms to determine essentiality of minor elements. Soil Sci. **60**, 185—189.
Turian, G., 1954: L'acide borique, inhibiteur de la différenciation des ascospores chez *Sordaria*. Exper. **10**, 183 (2 fig.).
— —, 1954: L'acide borique, inhibiteur de la copulation gamétique chez *Allomyces*. Exper. **10**, 498.
— —, 1955: Communication verbale devant la Société botanique suisse, Genève, avril 1955.
Winfield, M. E., 1945: The role of boron in plant metabolism. Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. **23**, 267—272.
Yogeswari, 1948: Proc. Ind. Acad. Sci. **28**, 177—201 (cité par F. C. Gerretsen, 1953: The influence of boron on the growth of *Azotobacter chroococcum*. VIe Congrès Intern. Microbiol., Rome, Communication No. 877).

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich

Über *Venturia rosae* de Not. und die Nomenklatur der Gattung *Venturia* de Not.

Von

E. Müller und R. Menon

Mit 2 Abbildungen

Die Ascomycetengattung *Venturia* de Not. umfaßt eine Anzahl wichtiger Pflanzenparasiten, welche Blattkrankheiten von erheblicher wirtschaftlicher Bedeutung hervorrufen. Unsicherheiten in der Nomenklatur dieser Pilze sind deshalb nicht nur eine interne Angelegenheit der Mykologen, sondern berühren ebenso sehr die gegenseitige Verständigung der Pflanzenpathologen.

In den letzten 30 Jahren ist nun z. B. für den Erreger des Apfelschorfes *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter nicht weniger als viermal ein neuer Name vorgeschlagen worden (Sydow, 1923; Petrak, 1924; Jørstad, 1943; Petrak, 1947). Die neuen Namen haben sich aber kaum durchsetzen können. In den pflanzenpathologischen Publikationen findet man daher mit wenigen Ausnahmen immer noch den zwar eindeutigen, aber den Nomenklaturregeln nicht entsprechenden Namen *Venturia inaequalis*.

Die Gattung *Venturia* wurde von de Notaris (1844) aufgestellt, mit einer ziemlich kurzen und nach heutigen Begriffen nicht eindeutigen Diagnose versehen und unter ihr zwei Arten angeführt. Leider sind diese beiden Arten nicht gattungsgleich. Die zweitgenannte Art: *Venturia dianthi* de Not. besitzt nämlich nicht zweizellige, sondern durch Quer- und Längssepten mehrzellige Sporen und gehört in die Gattung *Pleospora* Rbh. Sie heißt heute *Pleospora Notarisii* Petr. (vgl. Petrak, 1939).

Ursprünglicher Typus der Gattung ist *Venturia rosae* de Not. Sie wurde vom Autor an erster Stelle genannt und ihr entspricht auch die Gattungsdiagnose. In der „Sylloge Fungorum" von Saccardo (1883) findet sich der Pilz zunächst aber — wie *Venturia dianthi* — bei *Pyrenophora* Fr. Nach erneuter Untersuchung durch Berlese und Saccardo (1886) wurde für ihn jedoch die neue Gattung *Protoventuria* aufgestellt, weil er nicht dem entsprach, was die damaligen Autoren unter *Venturia* verstanden. Die Autoren geben in dieser Publikation eine ausführliche Beschreibung und eine schöne Abbildung. Aber dieses Vorgehen ist natürlich falsch und kann mit Recht ver-

worfen werden. Immerhin handelte es sich dabei um einen sehr seltenen Pilz, und es ließen sich dadurch eine ganze Reihe von Namensänderungen vermeiden.

Da wir der Meinung waren, die Nomenklaturprobleme der Gattung *Venturia* ließen sich nur durch erneute Untersuchung der Typusart lösen, bemühten wir uns im Laufe des vergangenen Winters, das Originalmaterial zu beschaffen. Leider scheint dieses aber verloren zu sein. Es ist auch unwahrscheinlich, daß der Pilz nach der Zeit von Berlese und Saccardo je wieder untersucht worden ist. Ebenso fehlt in der uns zugänglichen Literatur jeder Hinweis auf einen weiteren Fund des Pilzes seit der Zeit von de Notaris. Wir betrachten es deshalb als einen außerordentlichen Glücksfall, daß wir ihn vor kurzem an zwei weit auseinanderliegenden Orten in prächtig entwickeltem Zustande sammeln konnten und wir demnach von ihm eine ausführliche Beschreibung geben können:

Die vom Pilz befallenen, abgestorbenen Zweige des Wirtes (*Rosa alpina* L.) weisen ausgedehnte, hellgraue Rindenflecken auf, in denen die Fruchtkörper einzeln oder zu kleinen Gruppen vereinigt, oberflächlich wachsen. Diese Rindenverfärbung wird durch ein subkutikuläres, aber auch in die Epidermiszellen eindringendes und dazu oft tiefere Gewebeschichten erfassendes Stroma hervorgerufen. Dieses besteht zunächst aus einer ein bis zwei Zellreihen tiefen, dunkelbraunen Platte aus 4 bis 7 μ großen, bräunlichen, nicht sehr derbwandigen, meist kubischen Zellen. In den Epidermiszellen bildet der Pilz im oberen Teil ebenfalls braungefärbte Zellkonglomerate, welche tiefer im Substrat in ein hyalines, aus zartwandigen Zellen bestehendes Geflecht übergehen.

Die meist deutlich niedergedrückten 150 bis 250 μ breiten und 120 bis 200 μ hohen Fruchtkörper wachsen vollständig oberflächlich auf einem dichten Polster aus bräunlichen, zelligen, 2 bis 4 μ dicken Hyphen. Sie sind außen mit zahlreichen und nach allen Seiten abstehenden, bis 150 μ langen, am Ende zugespitzten, ziemlich schlanken Borsten besetzt und am Scheitel oft schüsselförmig eingesunken. Sie besitzen aber keine vorgebildete Mündung; erst zuletzt bröckeln einige Scheitelpartien weg. Die Gehäusewand ist 12 bis 18 μ dick und besteht aus 4 bis 6 μ großen, regelmäßig vieleckigen, nicht sehr derbwandigen, braunen Zellen, welche gegen innen in ein hyalines aus zartwandigen, rundlichen Zellen bestehendes Innengewebe übergehen.

Die 90 bis 110 $\times$ 20 bis 26 μ großen, breit zylindrischen oder meist deutlich sackförmigen Asci sind am Scheitel breit abgerundet, an der Basis in einen kurzen Stiel zusammengezogen und besitzen eine derbe, doppelte Wand. Sie sind von wenigen Resten des paraphysoiden Gewebes umgeben und enthalten je acht keulig-ellipsoidische, in der Mitte septierte und kaum eingeschnürte, olivenbräunliche, mit zahlreichen kleinen Höckerchen skulpturierte 29 bis 33 $\times$ 9 bis 12 μ große Sporen.

Fundorte: Auf abgestorbenen Ästchen von *Rosa alpina* L. — Schweiz, Kt. Glarus, Braunwald, Gumen etwa 1900 m. s. m. 19. Juni 1955 — France, Hautes Alpes, Col de Var, 2350 m. s. m. 4. August 1955.

Vergleichen wir nun *Venturia rosae* mit *Venturia inaequalis*, so fällt uns auf, daß die Fruchtschichten der beiden Pilze gut miteinander übereinstimmen. Im Bau und vor allem in der Lagerung der Fruchtkörper, sowie in der Stromabildung sind aber unverkennbare Unterschiede vorhanden. Zweifellos sind die beiden Pilze miteinander verwandt. *Venturia inaequalis* hat aber eingesenkte Fruchtkörper ohne Stroma oder höchstens mit einem das Substrat durchwebenden Myzel; *Venturia rosae* hingegen besitzt ein gut ausgebildetes, epidermales, oft auch tiefere Gewebeschichten des Wirtes durchdringendes Stroma, sowie ein subkutikuläres Stromahäutchen. Ihre Fruchtkörper sitzen auch vollständig oberflächlich auf der Kutikula und sind von einem deutlichen Hyphenfilz umgeben; oft sind sie sogar auf diesem Hyphenfilz sitzend.

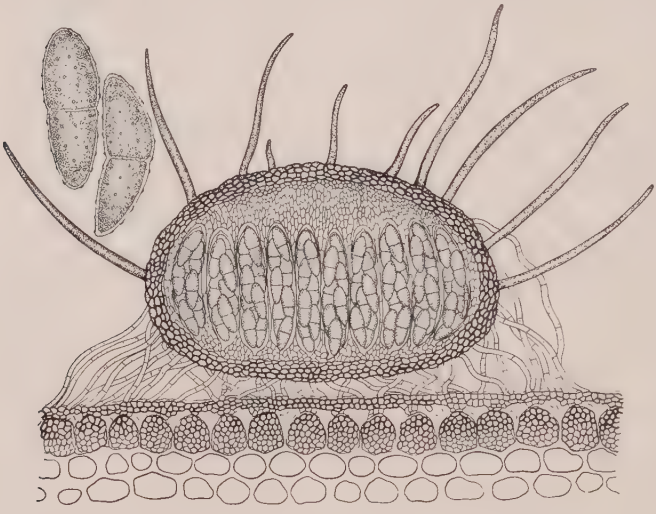

Abb. 1. Schnitt durch einen Fruchtkörper von *Gibbera rosae*, Vergr. 170mal, und Ascosporen, Vergr. 660mal

Venturia rosae würde demnach am besten in die von PETRAK (1947) ausführlich umschriebene und nachträglich von PETRAK (1950), MÜLLER und VON ARX (1950), VON ARX (1952) und MÜLLER (1954) erheblich erweiterte Gattung *Gibbera* Fr. passen. Bei Berücksichtigung der von PETRAK (1947) versuchten Einteilung der Gattung würde die Art zum Subgenus *Antennularia* (Reichenb.) Petr. gehören, da sie morphologisch am nächsten mit *Gibbera ericophila* (Link) Petr. und *Gibbera salisburgensis* Niessl verwandt ist.

Abb. 2. Gruppe von Fruchtkörpern von *Gibbera rosae*, Vergr. 75mal.
Phot. Dr. H. HESS, Inst. f. Spez. Bot. E. T. H.

Aus dieser Sachlage ergibt sich nun, daß die Gattung *Venturia* de Not. — beurteilt nach ihrer Typusart — mit *Gibbera* Fr. zusammenfällt, wobei *Venturia* als der ältere Name gültig wäre. Für die Pilze vom Typus der *Venturia inaequalis* müßte demnach tatsächlich ein neuer Gattungsname gefunden werden. Dabei sind aber die von SYDOW (1923) vorgeschlagenen Namen *Endostigme* und *Spilosticta* leider nicht die ältesten, fallen also außer Betracht. Vielmehr müßte *Phaeosphaerella* Karst. gewählt werden, deren Typusart *Phaeospaerella maculosa* Karst. mit *Venturia macularis* (Fr.) Müller et v. Arx zusammenfällt (vgl. PETRAK, 1940; MÜLLER und VON ARX, 1950).

Wir haben also — bei strikter Anwendung der Prioritätsbestimmungen in den Nomenklaturregeln — die außerordentlich verwirrende Situation, daß für zwei wichtige und umfangreiche Gattungen, nämlich *Gibbera* und *Venturia* (im heutigen Sinne) Namen gewählt werden müßten, nämlich *Venturia* und *Phaeosphaerella*, unter denen wir heute etwas ganz anderes verstehen. All diese Gattungen sind zudem nahe verwandt und durch Übergänge miteinander verbunden, so daß sie sich nicht immer leicht trennen lassen. Dadurch werden die Verwechslungsmöglichkeiten noch vermehrt.

Die Gattung *Venturia*, wie wir sie heute auffassen, geht vor allem auf KARSTEN, SACCARDO und WINTER zurück. Mit *Venturia chlorospora* (Ces.) Karst. an erster Stelle ist sie in der Sylloge Fungorum von SACCARDO (1882) aufgenommen und damit eindeutig umschrieben. Daß ihr in der Sylloge Fungorum noch Elemente zugeteilt wurden, welche heute zu anderen Gattungen gehören, kann für die Verwerfung als heterogene Gattung nicht ausschlaggebend sein. Auch bei WINTER (1887) ist *Venturia* in unserem Sinne einheitlich umschrieben.

An Vorschlägen für die Beibehaltung des eingebürgerten und kaum zu Verwechslungen Anlaß gebenden Gattungsnamens *Venturia* im Sinne SACCARDOS hat es bis heute nicht gefehlt. CLEMENTS und SHEAR (1931) erwähnen als Typus die von SACCARDO an erster Stelle angeführte *Venturia chlorospora*. BISBY und MASON (1940) geben die Pilze für England unter dem Gattungsnamen *Venturia* an und setzen sich dabei ausdrücklich für die Beibehaltung von *Venturia* vor *Spilosticta* Syd. ein. SHEAR (1948) gibt einen ausführlichen historischen und nomenklatorischen Überblick. Er schlägt als neuen Gattungstypus *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter vor und verwirft dabei auch den von JØRSTAD (1943) und PETRAK (1947) wieder aufgegriffenen Artnamen „*cinerascens*" als dubios. MÜLLER und VON ARX (1950) gehen nochmals kurz auf die Sachlage ein und unterstützen den Vorschlag von SHEAR (1948). Ebenso verwendet VON ARX (1952) bei seinem Überblick des gesamten Verwandtschaftskreises den Gattungsnamen im Sinne von SACCARDO und SHEAR. Wir möchten deshalb der Internationalen Nomenklaturkommission folgende Gattungsnamen zur Aufnahme in die Liste der „Nomina Generica Conservanda" vorschlagen:

1. *Venturia* de Not. emend. Saccardo

Atti Sci. Ital. **6**, 484 (1844) und Sylloge Fungorum **1**, 586 (1882).

Lectotypus: *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter (vgl. SHEAR, 1948).

Synonyme: *Endostigme* Syd. — Ann. Mycol. **21**, 173 (1923).
Phaeosphaerella Karst. s. str. — Medd. Soc. Fenn. **16**, 28 (1880) (teste Petrak, 1940).
Sphaerellopsis Klebahn — Haupt- u. Nebenfruchtformen. Asc. 168 (1918).
Spilosticta Syd. — Ann. Mycol. **21**, 173 (1923).

2. *Gibbera* Fr. emend. Petrak

Summa Veg. Scand. 402 (1849) und Sydowia **1**, 169—201 (1947).

Typus: *Gibbera vaccinii* Fr.

Synonyme: vgl. von Arx (1952) und dazu:
Epiploca Klebahn — Haupt- und Nebenfruchtformen. Ascom. 167 (1918).
Protoventuria Berl. et Sacc. — Atti Soc. Veneto-Trent. **10**, 174 (1886).
Venturia de Not. s. str. — Atti Sci. Ital. **6**, 484 (1844).

Für die ursprüngliche Typusart *Venturia* de Not. ergibt sich nun folgender Name:

Gibbera rosae (de Not.) comb. nov.

Synonyme: *Venturia rosae* de Not. — Atti Sci. Ital. **6**, 484 (1844).
Pyrenophora rosae Sacc. — Syll. **2**, 285 (1883).
Protoventuria rosae Berl. et Sacc. — Atti Soc. Veneto-Trent. **10**, 174 (1886).

Gibbera rosae ist nach unseren Beobachtungen ein Parasit, der die lebenden Rosenästchen befällt. Diese weisen ausgedehnte Flecke von blau-grauer Farbe auf. In Schnitten erkennt man in der Epidermis, aber auch oft im ganzen Rindengewebe die hyalinen oder schwach bräunlichen Hyphen des Pilzes. Die erkrankten Ästchen sterben ab und im darauffolgenden Frühjahr entwickeln sich die Perithecien auf den nun blaugrauen Rindenpartien.

Zusammenfassung

Die wieder aufgefundene Typusart der Ascomycetengattung *Venturia* de Not., *Venturia rosae* de Not. wird beschrieben und als Art der Gattung *Gibbera* Fr. erkannt. Um die verwirrende Situation, welche sich bei strikter Anwendung der Nomenklaturregeln ergeben würden, zu vermeiden, wird vorgeschlagen, die beiden Gattungsnamen *Venturia de* Not. (emend. Saccardo) mit dem Lectotypus *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter und *Gibbera* Fr. mit dem Typus *Gibbera vaccinii* Fr. in die Liste der „Nomina Generica Conservanda" aufzunehmen. Für *Venturia rosae* wird die neue Kombination *Gibbera rosae* eingeführt.

Summary

The Type species of *Venturia* de Not., *Venturia rosae* de Not. has been collected on the twigs of alpine *Rosa*, after the loss of the original and this has been put under the Genus *Gibbera* Fr. To avoid the complication arising from the strict use of Nomenclature rules, we propose to retain the two generic names *Venturia* de Not. (emend. Saccardo) with the Lectotype *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter and *Gibbera* Fr. with the Type *Gibbera vaccinii* Fr. in the List „Nomina Generica Conservanda". For *Venturia rosae* the new combination *Gibbera rosae* has been proposed.

Literaturverzeichnis

VON ARX, J. A., 1952: Tijdschrift over Plantenziekten **58**, 260—266.

— —, 1954: Acta Botanica Neerlandica **3**, 83—93.

BERLESE, A. N. und SACCARDO, P. A., 1886: Ann. Soc. Ven. Trent. **10**, 174.

BISBY, G. R. and MASON, E. W., 1940: Transact. Brit. Mycol. Soc. **24**, 172.

CLEMENTS, F. E. and SHEAR, C. L., 1931: The Genera of Fungi. The H. W. Wilson Company, New York.

JØRSTAD, I., 1943: Nyt. Mag. Nat. **84**, 251—253.

MÜLLER, E., 1954: Sydowia **8**, 60—73.

— — und VON ARX J. A., 1950: Ber. Schweiz. Bot. Ges. **60**, 329—397.

DE NOTARIS, G., 1844: Atti. Sci. **6**, 484.

PETRAK, F., 1924: Ann. Mycol. **22**, 114.

— —, 1939: Ann. Naturhist. Museum Wien, 410—535.

— —, 1947: Sydowia **1**, 169—201.

— —, 1950: Sydowia **4**, 482—492.

SHEAR, C. L., 1948: Mycologia **40**, 748—755.

SYDOW, H., 1923: Ann. Mycol. **10**, 170—174.

WINTER, G., 1887: Die Pilze in Rabenhorst Kryptogamenfl. 1^2.

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Braun

Untersuchungen über Frostschäden der Kartoffelknolle I.

Von
Theobert Voss

Mit 20 Abbildungen

I. Einleitung

Nach Wintern mit starken Frosteinbrüchen treten die durch Frost verursachten Lagerschäden der Kartoffel in den Vordergrund des Interesses.

In zahlreichen Zuschriften und Einsendungen von Kartoffelproben an das Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn wurden immer wieder Auskünfte erbeten, die sich auf Frostschäden bezogen. Nicht alle daraus entstandenen Fragen konnten auf Grund der bisher auf diesem Gebiete veröffentlichten Untersuchungsergebnisse befriedigend beantwortet werden. Zugleich forderte die Praxis (Hilken, 1954; Lemke, 1954 und persönliche Aussprachen) erneute Untersuchungen über die Frosteinwirkungen auf Kartoffelknollen.

Diese Situation bildete den Anlaß zu den vorliegenden Untersuchungen, die zur Klärung der noch ungelösten Probleme dieser nichtparasitären Knollenerkrankung beitragen sollen.

Durch Frosteinwirkung können Kartoffelknollen nicht nur gänzlich erfrieren, sondern auch lediglich schwächere, nichtletale Schädigungen davontragen. Gerade diese leichteren Frostschäden aber haben die unterschiedlichsten Symptome zur Folge, die besondere Beachtung verdienen. Braun (1949) hat die Symptomatologie als vordringliche Aufgabe der Pflanzenpathologie bezeichnet. Während nämlich die Diagnose der parasitären Erkrankungen weitgehend die Erreger heranziehen kann, findet die Bestimmung nichtparasitärer Krankheiten ihre einzige Stütze in den Symptomen. Die einwandfreie Diagnose stellt aber erst die Grundlage für eine Beurteilung kranker Kartoffelpartien dar. Deshalb soll die Symptomatologie der Frostschäden an Kartoffelknollen an den Anfang der Betrachtungen gesetzt werden.

Durch Frosttemperaturen nicht letal geschädigte Pflanzkartoffeln werfen ein weiteres Problem auf, das genauerer Untersuchung bedarf. Solche Knollen

lassen sich in den meisten Fällen äußerlich nicht von gesunden Kartoffeln unterscheiden, können also nicht aussortiert werden. Damit drängt sich die Frage nach ihrer Lagerungsfähigkeit und ihrem Pflanzwert auf.

Besonders auffallend ist, daß die einzelnen Knollen einer vollkommen einheitlichen Partie individuell unterschiedlich auf Temperaturen unter dem Gefrierpunkt reagieren, sich also in ihrer Kälteresistenz stark unterscheiden. Diese Erscheinung veranlaßte mich, nach Beziehungen zwischen charakteristischen Merkmalen und physiologischen Faktoren der Knollen einerseits und ihrer Kälteresistenz andererseits zu suchen.

Damit sind die drei Hauptprobleme der Arbeit umrissen. Eine Auseinandersetzung mit ihnen kann nur unter Berücksichtigung der herrschenden Theorien über den Kältetod erfolgen, wie sie in den letzten Jahrzehnten für die Pflanzen im allgemeinen und unter Benutzung der Kartoffelknolle als Versuchsobjekt im besonderen aufgestellt worden sind. Über sie wird zunächst in einer Literaturübersicht berichtet.

II. Literaturübersicht über die Auswirkungen der Kälte auf die Pflanzen

A. Die Kältetodtheorien im allgemeinen

Die Begriffe des „Erfrierens" und „Gefrierens" definiere ich in Anlehnung an Molisch (1918, S. 200): Unter „Erfrieren" einer Pflanze verstehe ich eine Schädigung oder ein Absterben infolge niederer Temperatur. „Gefrieren" bedeutet Bildung von Eiskristallen innerhalb des pflanzlichen Organismus. Das Gefrieren einer Pflanze braucht nicht unbedingt zum Erfrieren zu führen. Das Erfrieren hat auch nicht immer das Gefrieren zur Voraussetzung, da vor allem tropische Gewächse bei Temperaturen kurz über dem Gefrierpunkt des Wassers bereits erfrieren können.

In früherer Zeit galt es als Erfahrungstatsache, daß die Pflanzen durch Kälte geschädigt werden können, ohne daß man aber die Wirkung des Frostes zu erklären wußte. Bis etwa zum Jahre 1880, so berichtete Müller-Thurgau (1880), herrschte die Ansicht vor, Zellen und Gewebe würden durch das sich beim Gefrieren bildende Eis gesprengt, obwohl Göppert schon 1830 (S. 25 ff.) feststellte, daß die Zellen beim Gefrieren nicht platzen, was 1817 bereits Du Petit-Thouars (zit. nach Göppert, 1830, S. 30) behauptet hatte. Diese Beobachtung wurde später durch Meyen (1841), Caspary (1854), Sachs (1860, 1874) und Nägeli (1861) bestätigt.

Die Frage, ob das Eis innerhalb der Zellen (intrazellulär) oder in den Interzellularräumen (interzellulär) gebildet würde, war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Prillieux (1869) wies als erster die interzelluläre Eisbildung mit Sicherheit nach. Bald darauf folgten Müller-Thurgau (1880), Kunisch (1880), Frank (1895), Dalmer (1895), Molisch (1897, S. 27) und Ludwig (1899). Schander und Schaffnit (1919) bestätigten eine Beobachtung von Müller-Thurgau (1880), die dieser aber nur unter Laboratoriumsbedingungen für möglich hielt. Er zeigte, daß sich Eis auch nur innerhalb der Zellen bilden kann, wenn die Abkühlung sehr schnell erfolgt, während Iljin (1934) intrazelluläres Entstehen von Eis beschrieb, nachdem die Zellen äußerlich schon von einer Eisschicht umgeben waren.

Sachs (1860, 1874, 1892) schnitt die Frage an, ob die Geschwindigkeit des Auftauens für das Weiterleben der Pflanzen nach Frosteinwirkung von Bedeutung ist. Er glaubt, daß die Zellen beim schnellen Auftauen der ihren Wänden äußerlich aufsitzenden Eiskristalle nicht in der Lage sind, das während des Gefriervorganges abgegebene Wasser rasch wieder aufzusaugen. Das Wasser läuft deshalb in die Zwischenräume des Gewebes und „die ursprünglichen normalen Konzen-

trationsverhältnisse und Imbibitionszustände" können sich in den Zellen und Zellwänden nicht wieder einstellen. Infolgedessen stirbt die Pflanze erst während des Tauens. Dagegen kann das Wasser bei langsamem Auftauen von den Zellen aufgenommen und die Pflanze gerettet werden.

Gegen diese Kältetodtheorie von Sachs wandten sich Göppert (1871; 1883, S. 29—30) mit Ergebnissen aus Untersuchungen an weißen Blütenblättern einiger Orchideen, die sich beim Absterben blau färben, und Detmer (1886) und Molisch (1897, S. 39 ff.; 1918, S. 206) mit ähnlichen Versuchen. Auch Müller-Thurgau (1880, 1886) und Mez (1905) versuchten die Sachssche Theorie zu widerlegen. Ersterem, der in der Eisbildung und dem damit in Zusammenhang stehenden Wasserentzug aus den Zellen die Ursache des Todes sah (s. u.), gelang es niemals, durch langsames Auftauen bereits gefrorene Pflanzen am Leben zu erhalten. Mez hielt bei bestimmten Pflanzen geringe Eisbildung für unschädlich, lehnte aber einen Einfluß der Geschwindigkeit des Auftauens ab. Gelegentliche Schäden durch schnelles Auftauen erklärte er damit, daß Schmelzwärme der äußeren Schichten auch dem Innern des Objektes entzogen würde. Dadurch würde die Pflanze unter ihr „spezifisches Minimum" (S. 199) abgekühlt und getötet.

Auch andere Wissenschaftler erzielten nach Angaben von Wartenberg (1938) Resultate, die gegen die Auffassung von Sachs sprechen. Andererseits wurden aber von fast allen Autoren Ausnahmen gefunden, die Sachs Recht zu geben scheinen.

Erst Åkerman (1919) konnte die sich vielfach widersprechenden Ergebnisse mit eigenen Versuchen deuten: Nur wenn die Pflanzen einer mittelmäßigen Frosttemperatur ausgesetzt waren, gelang es, durch sehr langsames Auftauen Schäden zu verhüten. Ohne Bedeutung blieb die Art des Auftauens, sobald die Gewächse unter eine gewisse, für jede einzelne Pflanze verschiedene Temperatur abgekühlt worden waren oder wenn die einwirkende Frosttemperatur nur wenig unter dem Gefrierpunkt lag, sich also nur wenig Eis gebildet hatte.

Zu ähnlichen Verhältnissen gelangte auch Iljin (1934), der Art und Weise des Auftauens große Bedeutung beimißt, aber auch ein Absterben der Gewebe während des Gefrierens, besonders bei starkem Frost für möglich hält.

Stille (1950) kam bei Untersuchungen über den Kältetod von Mikroorganismen zu dem Ergebnis, daß die Geschwindigkeit sowohl des Auftauens als auch des Erfrierens die Anzahl der überlebenden Organismen entscheidend beeinflußt; langsames Erfrieren und rasches Auftauen wirken sich am ungünstigsten aus.

Offensichtlich reagieren also nicht alle Pflanzenarten zu jeder Zeit auf die Geschwindigkeit des Auftauens gleichartig. Keinesfalls kann in der Eisbildung selbst die Todesursache gesehen werden. Diese Erkenntnis führte zur Aufstellung weiterer K ä l t e t o d t h e o r i e n.

Müller-Thurgau (1880, 1886) glaubte, daß beim Gefrieren durch ein Dampfdruckgefälle zwischen Zellen und interzellulären Eisbildungszentren mit sinkender Temperatur den Zellen fortlaufend Wasser entzogen wird, so daß der Tod bei einer Temperatur eintritt, die eine durch die Entwässerung bedingte irreversible Schädigung der Zelle verursacht. Diese Temperatur wird ohne Schaden überstanden, wenn die Pflanze nur unterkühlt worden ist, also kein Wasser zu Eis auskristallisierte.

Gorke (1907) führte den Kältetod auf kolloidchemische Vorgänge als Folge der Wasserentziehung zurück. Sie erhöht die Konzentration der Salze und Säuren des Zellsaftes, wodurch Aussalzung und Denaturierung der Eiweißstoffe des Protoplasmas stattfindet. Ähnlich haben sich Lidforss (1896), Harvey (1918), Newton (1924) und Zacharowa (1926) geäußert. Schaffnit (1910, 1911) konnte in gewissen Fällen den Tod der Pflanzen auf eine solche Ausfällung zurückführen. Er glaubte ferner, zwei Grundkonstitutionen erkennen zu können:

1. Pflanzen, für deren Existenz Wasser unentbehrlich ist. Bei ihnen wird der Kältetod primär durch Wasserentziehung, sekundär durch „chemische Stoffumwandlungen und physikalische Zustandsveränderungen" verursacht.

2. Bedingt austrocknungsfähige Gewächse (Flechten und Moose) und Organe, die völlige Austrocknung vertragen (Samen und Sporen). Bei ihnen tritt der Tod bei einer gewissen, spezifisch minimalen Temperatur infolge physiologischer Störungen ein.

Daß der Wasserentzug allein nicht immer als die Ursache des Kältetodes angesehen werden kann, zeigten Pfeffer (1904, S. 315), Irmscher (1912), Maximow (1929) und neuerdings auch Ochi (1952). Sie konnten vielfach keine Beziehungen zwischen Kälte- und Trockenresistenz finden.

Maximow (1914) will für die Koagulation des Plasmas neben der wasserentziehenden Einwirkung des Frostes mit ihren kolloidchemischen Folgen, den Druck der sich ausdehnenden Eiskristalle verantwortlich machen. Ein geringer Druck kann die Ausfällung der Kolloide beschleunigen, wenn der Abstand zwischen den einzelnen Kolloidteilchen des Plasmas durch den Wasserverlust schon verkleinert worden ist. Er stützt sich dabei auf Untersuchungen von Lottermoser (1908) und Lepeschkin (1910). Ersterer stellte in kolloidalen Lösungen mechanisch-koagulierende Wirkung der Eiskristalle fest, letzterer erzielte eine Koagulation des Plasmas in plasmolysierten Zellen von *Spirogyra* durch Druck.

Schaffnit und Lüdtke (1932) haben später bei Erörterung der Ursachen des Kältetodes das Stoffwechselproblem und die damit zusammenhängende enzymatische Tätigkeit im Pflanzenorganismus besonders herausgestellt, da eine Beendigung der Stoffwechseltätigkeit, an die alles Leben gebunden ist, und sei es auch möglicherweise nur die Sistierung einer Enzymtätigkeit, zum Absterben der Pflanzen führen wird.

Abweichend von den bisher angedeuteten Vorstellungen über die Ursache des Kältetodes entwickelten Mez (1905) und seine Mitarbeiter (Apelt, 1907; Rein, 1908; Voigtländer, 1909) die Theorie des „spezifischen Minimums". Nach ihr erfriert eine Pflanze, wenn ihre Innentemperatur auf ein Minimum, einen spezifischen Todespunkt, sinkt, ohne daß Eisbildung einzutreten braucht. Dieses Minimum ist für jede Pflanze verschieden und spezifisch und soll in „besonderen, für unsere Sinne unkennbaren Eigenschaften des Protoplasmas" begründet sein. Es soll nur für Pflanzen gelten, die Eisbildung vertragen, nicht aber für trockenheitsempfindliche, die durch Wasserentzug infolge Eisbildung geschädigt werden.

Mez' Schüler Voigtländer wies nach, daß die Erreichung des spezifischen Minimums allein nicht ausreicht, sondern als Todesursache Eisbildung hinzutreten muß. Ihm gelang Unterkühlung der Pflanzen unter das „spezifische Minimum", also ohne Eisbildung. Wenn die Pflanzen aber gefroren waren, konnte er die Theorie des „spezifischen Minimums" mit seinen Befunden in Einklang bringen. Sie ist jedoch später von Maximow (1914) abgelehnt worden. Er prüfte die Ergebnisse der Mezschen Schule und konnte sie im Sinne der Wasserentziehungstheorie von Müller-Thurgau (1880, 1886) deuten. Auch Iljin (1934) lehnte einen spezifischen Todespunkt ab.

In neuester Zeit hat Stille (1950) Untersuchungen über den Kältetod von Mikroorganismen durchgeführt. Seine Ergebnisse konnte er mit keiner der angedeuteten Theorien über die Ursachen des Kältetodes völlig erklären, ohne daß er deshalb diese Theorien in ihrem Wert für die Deutung von Einzelerscheinungen einschränken will. Seine Versuche deuten darauf hin, „daß der Kältetod primär durch die Zerstörung eines lebenswichtigen, engbegrenzten Teiles der Zelle herbeigeführt wird, bei dem es sich möglicherweise nur um eine besonders empfindliche Molekülgruppe handelt". Der Kältetod der von ihm untersuchten Mikroorganismen wird nach seiner Vorstellung durch ein einzelnes Treffereignis im Zellkern im Sinne der von Jordan entwickelten „Treffertheorie" ausgelöst.

Die Verschiedenartigkeit der angeführten Theorien, die sich zum Teil ergänzen, zum Teil aber auch widersprechen, erlaubt keine allgemein gültige Erklärung des Kältetodes. Das mag darin einen Grund haben, daß der Kältetod als „Sammelbegriff" (Wartenberg, 1938) für alle Erscheinungen zu verstehen ist, die durch Einwirkung abnorm tiefer Temperaturen an den Pflanzen verursacht werden. Deshalb wird sich schwerlich eine Theorie finden lassen, die für alle Pflanzen und Pflanzenteile gültig klärt, was zwischen Eisbildung im Gewebe und Absterben des Organismus geschieht.

Auch über die Ursachen des K ä l t e t o d e s o h n e E i s b i l d u n g herrscht noch keine Klarheit. Wiederholt ist beobachtet worden, daß Pflanzen erfroren, die niedrigen Temperaturen ausgesetzt waren, ohne daß diese unter den Gefrierpunkt des Wassers sanken und in den betreffenden Organismen Eisbildung erfolgte (Literatur bei Wartenberg, 1933). Besonders bekannt sind solche Schäden an tropischen Pflanzen. Molisch

(1918, S. 202) wie auch Sellschop und Salmon (1928) führten sie auf physiologische Störungen zurück.

Möbius (1907) und Hiltner (1933, S. 379—380) sprechen von „Erkältung" der Pflanzen, wenn diese durch plötzliche Abkühlung unter Ausschluß der Eisbildung geschädigt werden, wie es z. B. beim Transport von einem Gewächshaus in das andere bei niedrigen Außentemperaturen vorkommen kann. Sie vermuten Störungen im Protoplasma als Ursache der „Erkältungs"-Schäden. In ähnlicher Weise äußerten sich Ullrich und van Veen (1942) und Ullrich (1943).

Schumacher (1954, S. 259) hat darauf hingewiesen, daß die einzelnen Stoffwechselprozesse bei tiefen Temperaturen wegen ihrer unterschiedlichen Temperaturansprüche ganz verschieden beeinflußt werden und daß es möglicherweise zu einer „unerträglichen Verschiebung der Geschwindigkeit der einzelnen sonst ineinandergreifenden Prozesse" kommt. Hiltner (1933, S. 379—380) hat zu Unrecht den Vorgang der „Erkältung" auch als „Unterkühlung" bezeichnet. Beide Vorgänge sind zweifellos voneinander zu trennen. Von letzterer spricht man bekanntlich, wenn Wasser ohne Eisbildung unter den Gefrierpunkt abgekühlt wird. Auch Pflanzen können unter ihren Gefrierpunkt abgekühlt, also unterkühlt werden. Als ihr Gefrierpunkt wird nicht der Gefrierpunkt ihres Zellsaftes, sondern diejenige Temperatur bezeichnet, bei der ohne Unterkühlung die Eisbildung im lebenden Gewebe beginnt. Wenn ein Pflanzengewebe unterkühlt war, steigt seine Temperatur, sobald sich das erste Eis bildet, infolge der frei werdenden Kristallisationswärme auf diesen Gefrierpunkt an. Sehr viele Pflanzen überstehen eine Unterkühlung ohne sichtbaren Schaden. Erst Eisbildung wird schädlich, vorausgesetzt, daß der betreffende Organismus gegen die Entstehung der Eiskristalle empfindlich ist.

Fast alle Autoren, die sich mit dem Problem der Kälteschäden an Pflanzen befaßten, beobachteten solche Unterkühlung und haben sich mit diesem Phänomen beschäftigt, dem speziell bei Kälteuntersuchungen an Kartoffelknollen besondere Bedeutung zukommt. Beziehungen der Fähigkeit zur Unterkühlung werden zur Zellgröße (Molisch, 1897; Voigtländer, 1909), zum Alter und zum Wassergehalt der Pflanzen (Müller-Thurgau, 1886) vermutet. Positive Korrelationen haben Voigtländer (1909), der bei geringerem Querschnitt der Interzellularen erhöhte Unterkühlungsfähigkeit beobachtete, und Wartenberg (1938, 1939) erwähnt, der feststellte, daß quellungsfähige, einwertige Ionen den Kapillareffekt erhöhen und damit die Häufigkeit des Unterkühlungsphänomens vermehren. Keine Beziehungen konnten zwischen Unterkühlungseignung und Gefrierpunkt der Pflanzen nachgewiesen werden (Voigtländer, 1909).

Schander und Schaffnitt (1919) haben für das Auswintern des Getreides die Unterkühlung praktisch nicht allzu hoch bewertet, da Luftbewegung und Benetzung der Pflanzen stark unterkühlungshemmend wirken, während Iljin (1934), Ullrich und Mäde (1940) den Unterkühlungseffekt für die Frostresistenz von Blättern für wichtig halten. Nach Walter und Weismann (1936) läßt sich lebendes Gewebe besonders leicht stark unterkühlen. Auch Seemann (1942) mißt der Unterkühlung für die Selektion frostresistenter Bohnen ausschlaggebende Bedeutung bei. Wartenberg (1938) hat, speziell im Hinblick auf sommeranuelle Pflanzen, die Wichtigkeit der Unterkühlung unterstrichen und zur Bearbeitung der Unterkühlbarkeit des Pflanzenkörpers aufgefordert, die seiner Meinung nach „stets ein Stiefkind" der Kältetodforschung war.

B. Der Kältetod der Kartoffelknolle

Die Frostempfindlichkeit der Kartoffeln wurde erstmalig von Acosta in seinem vielfach aufgelegten Werke „Historia natural de las Indias", Madrid, 1792 (zit. nach Münter, 1846, S. 13) erwähnt. Acosta, der im Jahre 1571 Peru bereiste, teilt mit, daß „eine Art von Wurzeln, welche die Einwohner des Landes Papas nennen und den turmas de tierra (Trüffel) ähnlich sind, häufig erfrieren". Nach Münter (1846, S. 14) wird mit dem Wort „Papa" die Kartoffel bezeichnet, die den Indianern als Nahrung diente.

Über die Ursache des Kältetodes der Kartoffelknolle machte sich Münter (1846, S. 34) Gedanken, der die Ansicht vertrat, daß durch Frosteinwirkung der Zellsaft gefriert, das Eis sich ausdehnt und dadurch die Zellen voneinander losgelöst werden; gleichzeitig

zeichnen sich erfrorene Kartoffeln durch einen „widrig süßen Geschmack" aus, der aber bei einer Temperatur von — 12,5 ° C ausbleibt.

Das Süßwerden der Kartoffeln ist, wie MÜLLER-THURGAU (1882) nachgewiesen hat, kein Zeichen für einen Frostschaden, sondern nur dafür, daß die Knollen einige Wochen bei Temperaturen dicht über dem Gefrierpunkt gelagert haben.

Die in der Literatur vorliegenden Angaben über den Gefrierpunkt der Kartoffelknolle schwanken etwa zwischen — 1 ° und — 2 ° C (MÜLLER-THURGAU, 1880; MAXIMOW, 1914; WRIGHT und TAYLOR, 1923; WRIGHT und DIEHL, 1927).

MÜLLER-THURGAU (1880) beobachtete, daß ein merkbarer Zuckergehalt den Gefrierpunkt der Kartoffelknollen herabsetzt. Gegen diese Auffassung hat sich APELT (1907) gewandt, der auf theoretischem Wege berechnete, daß die jeweilige Menge des angereicherten Zuckers nicht ausreicht, um die erzielte Gefrierpunkterniedrigung zu erklären. Dabei hat er aber übersehen, daß MÜLLER-THURGAU neben den Konzentrationsverhältnissen noch eine „Kraft, mit der das Protoplasma das eingeschlossene Wasser festhält", als Faktor für die Gefrierpunkterniedrigung herangezogen hat.

Neben dem Zuckergehalt sind individuelle Eigentümlichkeiten einzelner Knollen derselben Sorte und Probe (WRIGHT und TAYLOR, 1923), Sortenzugehörigkeit, Bodenbeschaffenheit während des Wachstums (WRIGHT und DIEHL, 1927), Höhe der die Knollen umgebenden Temperatur (MAXIMOW, 1914; WALTER und WEISMANN, 1936) und Temperatur während der Lagerung vor der Frosteinwirkung (WRIGHT und DIEHL, 1927) als bestimmende Faktoren für die Lage des Gefrierpunktes erwähnt. So sinkt er um so mehr, je kühler die Knollen vor Beginn des Frostes über längere Zeit hin lagerten und je niedriger die das Knollenmaterial umgebende Lufttemperatur ist.

Die Temperatur von etwa — 1 ° bis — 2 ° C muß bei Lagerung von Kartoffeln schon als gefährlich angesehen werden, da in diesem Bereich die Unterkühlung beginnt, welche Eisbildung und damit eine Schädigung der Knollen zur Folge haben kann. Nur wenn sich die Knolle, ohne zu gefrieren, wieder erwärmen kann, bleibt keine sichtbare Schädigung zurück (WRIGHT und DIEHL, 1927).

Der Bildung von Eiskristallen innerhalb einer trocken und ruhig lagernden Kartoffelknolle geht immer eine Unterkühlung voraus (MÜLLER-THURGAU, 1880). Deshalb spielt bei der Kartoffelknolle die wichtigste Rolle nicht der Gefrierpunkt, sondern das Unterkühlungsphänomen, zumal es einen gewissen Schutz gegen Temperaturen bildet, die unter dem Gefrierpunkt der Knolle liegen.

Im unterkühlten Zustand ist die Gefahr des Gefrierens besonders groß, weil bei Erreichung einer bestimmten, minimalen Temperaturgrenze ohne andere äußere Einflüsse in der Knolle Eis entsteht. Diese unterste Grenze hat MÜLLER-THURGAU (1880) im Durchschnitt mit — 3 ° C, im äußersten Fall mit — 6,1 ° C angegeben, während es WRIGHT und HARVEY (1921) gelang, Knollenstückchen auf Temperaturen zwischen — 5 ° und — 8 ° C zu unterkühlen.

Diese Grenzen werden außerdem durch die Umgebungstemperatur der Knollen beeinflußt. MÜLLER-THURGAU (1880) glaubte, daß Unterkühlung um so tiefer möglich ist, je niedriger die umgebende Temperatur ist. JONES, MILLER und BAILEY (1919) und WRIGHT und TAYLOR (1921) beobachteten ein Ansteigen des Unterkühlungspunktes, wenn die einwirkende Temperatur sehr rasch sinkt. Wenn die Temperatur nur langsam abnimmt, läßt sich das Objekt etwas tiefer unterkühlen. Wärmere Lagerung vor Beginn des Frostes wirkt sich auch insofern ungünstig aus, als sich wärmer gelagerte Knollen schlechter unterkühlen lassen (WRIGHT und DIEHL, 1927).

Aber auch andere äußerliche Einwirkungen, wie Schlag und Stoß, sehr schnell gefrierende Feuchtigkeit auf der Knollenoberfläche und starke Luftbewegung (WRIGHT und HARVEY, 1921; WRIGHT und TAYLOR, 1921) können unterkühlte Knollen sofort gefrieren lassen. Je tiefer eine Knolle unterkühlt ist, um so empfindlicher reagiert sie auf solche äußeren Einflüsse, wobei aber starke individuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Knollen sogar derselben Partie festgestellt worden sind (JONES et al., 1919). Dabei war durch sorgtältige Isolierung der einzelnen Knollen ihre gegenseitige Beeinflussung ausgeschlossen, wie sie bei der praktischen Lagerung dadurch eintreten kann,

daß die Kristallisationswärme gefrierender Knollen den benachbarten einen gewissen Wärmeschutz bietet (Müller-Thurgau, 1886, S. 494; Wright und Diehl, 1927).

Daß die Zahl der geschädigten Knollen mit zunehmender Dauer der Frosteinwirkung steigt, liegt nahe (Müller-Thurgau, 1886; Vaughan und Miller, 1919; Jones et al., 1919; Wright und Taylor, 1921; Wright und Diehl, 1927).

Apelt (1909), der an der Kartoffelknolle die Richtigkeit der Theorie des „spezifischen Minimums" nachweisen wollte, unterschied zwischen dem Gefrierpunkt und dem um 0,1—0,5 ° C niedriger liegenden Todespunkt, der diejenige Temperatur bezeichnet, bei der das Gewebe abstirbt. Zwischen diesen beiden Punkten würde also ein Temperaturbereich bestehen, bei dem die Knolle Eisbildung ohne Schaden verträgt. Maximow (1914) wies aber nach, daß es für die Kartoffelknolle keinen bestimmten Todespunkt gibt, sondern einen Temperaturbereich von etwa 0,7 ° C, in dem die Zahl der abgestorbenen Zellen mit sinkender Temperatur immer größer wird. Damit bestätigt er ähnliche Beobachtungen von Müller-Thurgau (1886), der mit der Kartoffelknolle seine Wasserentziehungstheorie entwickelte.

Während Müller-Thurgau schon von der geringsten Eisbildung in der Knolle sichtbare Schäden erwartete, errechnete Maixmow (1914) aus seinen Versuchsergebnissen, daß eine Kartoffelknolle das Gefrieren von etwa 10—20 % ihres Wassers vertragen kann, ohne geschädigt zu werden.

Bei Untersuchungen über die Bedeutung der Geschwindigkeit des Auftauens konnte langsames Auftauen niemals Knollen retten, die sonst vernichtet worden wären (Müller-Thurgau, 1886; Apelt, 1909; Åkerman, 1919). Ebensowenig konnte die Art des Auftauens die Stärke der Schädigung beeinflussen (Jones et al., 1919). Åkerman (1919) schloß daraus, daß die Kartoffelknolle überhaupt keine Eisbildung verträgt, eine Auffassung, der sich Wright und Diehl (1927) anschlossen.

Die nach Unterkühlung der Knollen eintretende Eisbildung macht sich durch Temperaturanstieg im Gewebe bemerkbar. Wright und Harvey (1921) glaubten, daß durchschnittlich nicht mehr als 50 Sekunden notwendig sind, bis der Gefrierpunkt erreicht wird. Müller-Thurgau (1886), der Kartoffelknollen 5 Minuten nach dem Kristallisationsbeginn ins Warme brachte, konnte dann schon deutlich lokale Schäden feststellen. Wright und Diehl (1927) ermittelten die Zeitspanne, innerhalb welcher nach der Eisbildung noch Frost (in diesem Fall — 5,5 ° C) einwirken mußte, um Symptome zu erhalten, mit etwa 30 Sekunden bis 5 Minuten. Die Dauer, während welcher die Kartoffelknolle Eisbildung in ihrem Inneren ohne Schädigung erträgt, ist also hiernach sehr kurz.

Diese geringe Eisverträglichkeit der Kartoffelknollen macht es erforderlich, eine Verbesserung ihrer Kälteresistenz nicht durch Erhöhung ihrer Eisbeständigkeit anzustreben, z. B. durch Verhinderung zu starker und rascher Entwässerung des Plasmas (Kessler und Ruhland, 1938), wie es bei Pflanzen durchgeführt wird, die Gefrieren besser ertragen (die jüngeren Arbeiten auf diesem Gebiet stammen von Siminowitsch und Briggs, 1949; Pisek, 1950; Edgerton und Harris, 1950; Belkin, 1951 und Kičigin, 1953), sondern durch Verbesserung der Unterkühlungsfähigkeit.

Eine gute Unterkühlungsfähigkeit drückt sich darin aus, daß die Knolle einerseits lange Zeit relativ niedrige Temperaturen ohne Eisbildung verträgt, andererseits bei möglichst tiefen Temperaturen noch Außeneinflüssen widersteht, die die Eisbildung einleiten können (z. B. Schlag und Stoß).

Außer den schon genannten Außenfaktoren, welche die Unterkühlungsfähigkeit der Kartoffeln beeinflussen können, lassen sich noch einige Beziehungen zu Merkmalen finden oder vermuten, die in der Knolle selbst begründet liegen. Müller-Thurgau (1882) fand, daß der Zuckergehalt fast in allen Fällen den Unterkühlungspunkt senkte; der Stärkegehalt dagegen blieb ohne Einfluß. Jones et al. (1919) konnten keine deutlichen Unterschiede in der Frostanfälligkeit verschieden reifer Knollen feststellen. Überhaupt keine Beziehungen fanden sie zwischen Turgeszenz und Frostempfindlichkeit der Knollen. Aus derartigen Angaben kann gleichzeitig auf die Unterkühlungsfähigkeit der Knollen geschlossen werden, da eine Frosttemperaturen ausgesetzte Partie geschädigte und nichtgeschädigte, demnach gut und schlecht unterkühlungsfähige Knollen enthält. Wright und Taylor (1921) beobachteten sortenunterschiedliche Fähigkeit der Knollen, der Beendigung der Unterkühlung durch Schlag und Stoß zu widerstehen.

III. Die Symptomatologie der Frostschäden an Kartoffelknollen

Frosteinwirkung auf Kartoffelknollen führt nicht immer zu gänzlich erfrorenen Knollen. Das Bild des Frostschadens kann sehr verschiedenartig sein. Drei Symptomgruppen sind zu unterscheiden: Letale Knollenschäden, lokale Schädigungen des Parenchyms und Nekrosen der Gefäße. In jeder dieser Gruppen lassen sich zwei oder drei typische Krankheitsbilder beschreiben. Andererseits kann ein Symptom in das andere übergehen, oder es treten mehrere Symptome zugleich in einer Knolle auf. Bei der Beurteilung frostgeschädigter Knollen habe ich deshalb immer das vorherrschende Symptom zur Charakterisierung des Schadens herangezogen.

Die Art der Symptome steht in gewisser Abhängigkeit von den Frostbedingungen, worauf ich im Anschluß an die Beschreibung der Krankheitsbilder eingehen werde. Ohne Einfluß bleibt die Sortenzugehörigkeit. Keine von fünf überprüften Sorten (Ackersegen, Bona, Heida, Sieglinde, Speisegold) wies eine symptomatologisch spezifische Raktion auf, sämtliche Symptomtypen kamen bei allen Sorten vor. Dasselbe gilt für Reifegrad und Knollengröße, womit Beobachtungen von Jones et al. (1919) bestätigt werden. In allen Versuchen zeigte sich, daß weder Knollengröße noch Reifegrad mit spezifischen Krankheitserscheinungen hervortreten.

A. Material und Methoden

Die verschiedenen Symptome des Frostschadens an Kartoffelknollen wurden experimentell in einer Kältekammer erzeugt („ATE"-Kältemaschine, Kompressionsprinzip und Chlormethyl als Kältemittel; ständige Luftumwälzung durch Ventilator; automatische Temperaturregelung durch Thermostat, Schwankungen ± 0,3° C).

Die Versuchsknollen wurden bei einer Lagerungstemperatur von 4—6° C aufbewahrt und bei jedem Versuch vom Lager aus sofort in die Kältekammer gesetzt, die bereits vorher auf die gewünschte Temperatur gebracht worden war.

In der Kältekammer waren die Knollen in Lattenkisten einzeln voneinander isoliert zwischen zwei Latten gelagert, so daß sie sich nicht berührten und von der kalten Luft allseitig umspült werden konnten. Um sie nicht dem Ventilatorstrom auszusetzen, wurden die Kisten so in den toten Winkel des Gebläses gestellt, daß die Knollen nur noch von äußerst geringen Luftwirbeln erreicht wurden.

Zur Beendigung der gewünschten Frostbehandlung wurde die Kammer mittels zwei eingebauten elektrischen Heizungen von je 2 kW und durch Öffnen der Türen rasch erwärmt. Durch dieses plötzliche Abkühlen und schnelle Auftauen konnten Stärke und Dauer der Frosteinwirkung genau angegeben werden.

Als Versuchsmaterial dienten Knollen der Sorte Bona. Sie waren sortenrein und von einwandfreier Beschaffenheit.

Für die Mikrophotographien wurden die Objekte in Paraffin eingebettet und Mikrotomschnitte von 20 μ Stärke hergestellt.

B. Symptome der einzelnen Frostschäden

1. Letaler Knollenschaden

a) Typ der „saftig-weichen" Knolle

Sobald eine Kartoffelknolle, die steinhart gefroren war, aufgetaut ist, wird sie vollkommen weich; es fehlt jede Turgeszenz, und durch jede noch so kleine Beschädigung der Schale dringt Wasser nach außen. Deshalb wird eine Knolle dieses Symptomtyps als „saftig-weich" bezeichnet. Wenn sie mit dem Messer halbiert wird, bietet sie der Schneide kaum Widerstand, und eine große Menge Wasser tropft ab. Die Schale ist vom Gewebe vollkommen losgelöst und kann ohne weiteres abgezogen werden. Eine saftig-weiche Kartoffel wird in wenigen Tagen von Bakterien befallen und verfault.

Wenn das tote Gewebe einer saftig-weichen Knolle — z. B. beim Schneiden — der Luft ausgesetzt wird, färbt es sich in etwa 20 Minuten rötlichbraun, um allmählich braun und schließlich schwarz zu werden. Diese Verfärbung bleibt aus, solange die Schale noch unbeschädigt ist. Unter Zutritt von Sauerstoff wird das Tyrosin durch die aus dem Zellgefüge losgelöste Tyrosinase zu den schwarzen Farbstoffen, den Melaninen, oxydiert (VAN HALL, 1902; BARTHOLOMEW, 1915; VON HOEFFT, 1920; BOAS und MERKENSCHLAGER, 1925). Neuerdings hat sich freilich JUUL (1949) gegen diese Auffassung gewandt. Er vermutet, daß die Schwarzfärbung durch Bildung von Ferri-Kaffeesäure und anderen Ferri-Diphenolen hervorgerufen wird. Diese Ferri-Verbindungen sollen bei Hinzutreten von Luft durch Oxydation von Ferro-Verbindungen entstehen.

b) Typ der „gummiartig-weichen" Knolle

Erfrorene Kartoffelknollen können nach dem Auftauen auch eine gummiartig-weiche Konsistenz annehmen, wonach ich die Bezeichnung dieses Symptomtyps gewählt habe. Die Kartoffeln „knacken" nicht, wenn sie geschnitten werden, und ihr Gewebe gibt Wasser nur unter Druck ab. Das Knollenfleisch nimmt wie das der saftig-weichen Kartoffeln nach dem Schneiden in etwa 20 Minuten einen rötlich-braunen Farbton als Beginn der Schwarzfärbung an. Auch die Schale läßt sich in größeren Stücken abziehen.

Dabei muß darauf hingewiesen werden, daß eine sich abnorm leicht vom Gewebe lösende Schale nicht als regelmäßiges Symptom für Frostschäden angesehen werden darf, wie es in der Praxis gelegentlich geschieht. Nur wenn die unter der Schale liegenden Zellen abgestorben sind, kann die Schale abgezogen werden, nicht aber, wenn der Gefrierprozeß nur lokale Schädigungen des Parenchyms oder Nekrosen der Gefäße erzeugte.

Die gummiartig-weichen Kartoffeln lassen gegenüber den saftig-weichen noch geringe Lebensäußerungen erkennen, wie sich mit dem TTC-Test

(Lakon, 1942; Wallhäuser, 1951; Stolp, 1952 u. a.) nachweisen läßt, den Stille (1953) auch an Kartoffeln zur Bestimmung der Lebensfähigkeit der Keime nach Hitzebehandlung anwandte.

Tabelle 1

TTC-Test am Parenchym gesunder und frostgeschädigter Kartoffelknollen

Kontrolle	Färbung eines Stückchens aus einer		
	gesunden Knolle	gummiartig-weichen Knolle	saftig-weichen Knolle
Nach 3 Stunden	sehr schwach rötlich	keine Färbung	keine Färbung
Nach 6 Stunden	schwach rötlich	sehr schwach rötlich	keine Färbung
Nach 12 Stunden	rötlich	schwach rötlich	keine Färbung
Nach 24 Stunden	karminrot	schwach rötlich	keine Färbung

Wenn ein Stückchen (20×10×2 mm) Parenchym von je einer gesunden, einer gummiartig-weichen und einer saftig-weichen Knolle in eine 0,05%ige wäßrige Lösung von Triphenyl-tetrazoliumchlorid bei Zimmertemperatur (20° C) gelegt wird (Tab. 1), zeigt sich, daß neben dem gesunden Gewebe auch das der gummiartig-weichen Knolle noch reduktionsfähig ist. Nur das Gewebe der saftig-weichen Knolle ist gänzlich abgestorben, so daß jegliche Färbung unterbleibt. Aber auch die gummiartig-weiche Knolle bleibt in der Intensität der Färbung hinter der gesunden zurück. Hier ist also offensichtlich eine Schädigung eingetreten. Der Versuch wurde zwei Tage nach der Frostbehandlung angesetzt. Wird der TTC-Test eine Woche nach der Frosteinwirkung durchgeführt, bleibt auch das Gewebe der gummiartig-weichen Knolle ungefärbt, die Zellen sind also inzwischen gänzlich abgestorben.

Äußerlich kann eine solche Knolle in den ersten Tagen nach dem Auftauen nicht von gesunden Kartoffeln unterschieden werden, wenn man nicht durch Druck zwischen den Fingern die weiche Konsistenz fühlt. Nach vier bis fünf Tagen werden aber vielfach auf der Schale gummiartig-weicher Knollen kleine, runde, schwarze Flecke mit einem Durchmesser von etwa 2 mm sichtbar (Abb. 1). Diese Flecke haben sich um jede Lentizelle gebildet, einzelne von ihnen können gelegentlich zu einem größeren Fleck zusammenfließen. Anscheinend gelangte durch geringe Respiration noch Sauerstoff an das unmittelbar unter der Schale

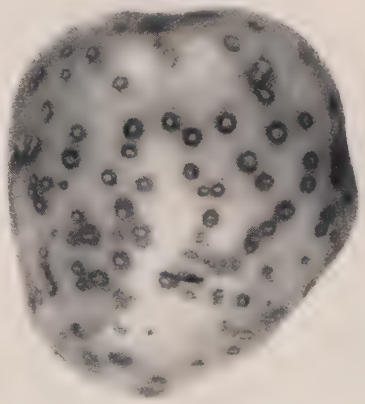

Abb. 1. Schwarzfärbung um die Lentizellen einer „gummiartig-weichen" Knolle

liegende Gewebe, wo er sofort an abgestorbenen Zellen die Melaninbildung ermöglichte.

Auch gummiartig-weiche Knollen fallen, sobald sie nur gering verletzt werden, schnell der Zerstörung durch Bakterien anheim.

2. Lokale Schädigung des Knollenparenchyms

a) Marmorierung

Die Marmorierung ist als Zwischenstadium zwischen dem gerade beschriebenen Symptom und der anschließend zu behandelnden „Frostdelle" anzusehen. Sie ist die Auswirkung von Gewebebeschädigungen in der Art der gummiartig-weichen Knolle, doch bleiben diese lokal, so daß die Kartoffel auch noch über gänzlich gesundes Gewebe verfügt. Wenn eine solche Knolle 24 Stunden nach dem Gefrierprozeß geschnitten wird, lassen sich die geschädigten Gewebezonen an ihrem etwas dunkleren und wäßrigen Aussehen erkennen. Zugleich werden sie oftmals durch eine schwach bräunliche Zone vom gesunden Gewebe getrennt. Dadurch ergibt sich ein Bild mit unregelmäßigen, verschiedensten Farbtönen zwischen gelb und braun. Abbildung 2

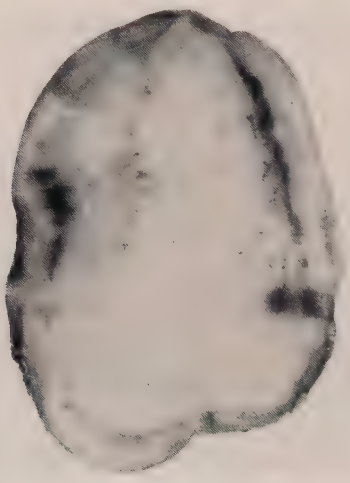

Abb. 2. Knollenschnitt mit Marmorierung und Ringnekrose

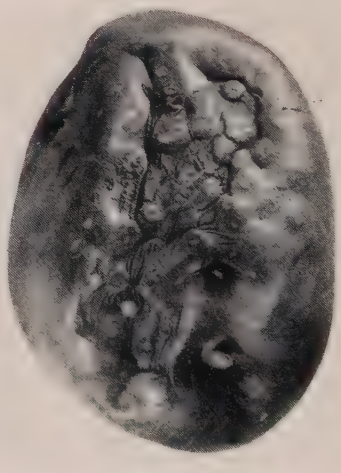

Abb. 3. Durch lokale Frostnekrose eingesunkene Knolle

zeigt eine solche Knolle. Bei den in der Wiedergabe fast schwarz wirkenden Stellen handelt es sich um eine zusätzlich vorhandene, dunkelgrau gefärbte Ringnekrose; alles andere sind bräunliche Farbtöne. Die lokal geschädigten Gewebepartien weisen nach dem Schneiden der Knolle auch sehr bald die bekannte Melaninfärbung auf und sinken infolge Verdunstung etwas ein. Wenn solche Zonen direkt unter der Schale liegen, läßt sich — allerdings nur an diesen Stellen — die Schale abziehen.

Im Laufe der Zeit, bei trockener Lagerung in fünf bis sechs Tagen, beginnt das geschädigte Gewebe, soweit es nicht von Fäulniserregern besiedelt

wird, allmählich auszutrocknen; es bilden sich nekrotische, dunkelgrau bis hellgrau gefärbte, oftmals Hohlräume enthaltende Zonen, die von einem schmalen braunen Rand, einer Wundkorkschicht, abgekapselt werden. Die Knolle kann, da das Gewebe schrumpft, äußerlich etwas einfallen, wie Abb. 3 zeigt. Hier weisen die um die Lentizellen herumliegenden, runden Höfe noch darauf hin, daß vorher derselbe Prozeß abgelaufen ist, wie er von den gummiartig-weichen Knollen bekannt ist: Das geschädigte Gewebe lag direkt unter der Schale, so daß die schwarzen Lentizellenflecke entstehen konnten.

Durch Frosteinwirkung marmorierte Kartoffeln werden meistens innerhalb weniger Tage von Mikroorganismen befallen und mit der Zeit zerstört. Wenn der Schaden jedoch nur einen kleinen Teil der Knolle betrifft und sie gegen Saprophyten Widerstand leisten kann, bildet sich die oben beschriebene „Frostnekrose". Diese Bezeichnung („frost necrosis") ist erstmalig von Jones und Bailey (1917) für drei Frostschadenstypen, die Ringnekrose, die Netznekrose und den „blotchtyp" angewandt worden. Die in diesem Abschnitt beschriebenen lokalen Frostschäden des Knollenparenchyms wurden von Jones et al. (1919) und Vaughan und Miller (1919) als „blotches", von Wright und Diehl (1927) als „blotch-injury" bezeichnet.

Bei sehr starker, plötzlicher Abkühlung (— 10° C) kann es vorkommen, daß die ganze Rindenschicht durch den Gefrierprozeß in der angegebenen Weise gelitten hat, das Mark aber gesund geblieben ist. In solchen Fällen wurde bei Lagerung der Knollen bei 26° C nach zehn Tagen Schwarzherzigkeit beobachtet, falls die Knollen nicht vorher durch Saprophyten zerstört wurden. Die Ursache der Schwarzherzigkeit wird im Sauerstoffmangel gesehen (Bartholomew, 1913, 1915; Braun, 1932; Singh und Mathur, 1938; u. a.), der natürlich im Mark eintreten muß, wenn die Rinde ringsherum erfroren ist. Die Schwarzherzigkeit ist also nur eine sekundäre Erscheinung der Frosteinwirkung.

b) Frostdelle

In der Literatur über Frostschäden der Kartoffelknolle wurde bisher behauptet, daß Frostnekrosen äußerlich an den Knollen nicht bemerkt werden können. Ich konnte eine Ausnahme von dieser Regel feststellen, die sogar sehr häufig in meinen Versuchen wiederkehrte. Es handelt sich dabei um ein Symptom, das ich als „Frostdelle" bezeichne. Infolge einer lokalen Frostnekrose des Rindenparenchyms sinkt die Schale ein. Es entsteht eine Delle (Abb. 4), die in kleinstem Ausmaß mit einem Durchmesser von etwa 2—3 mm bis zu Größen auftreten kann, bei denen etwa 4 cm in der Länge und in der Breite gemessen wurden. Wenn noch größere Flächen der Rinde durch den Gefrierprozeß angegriffen werden, verliert sich das Bild einer Delle, und die so erkrankte Knolle nähert sich dem Typ der Marmorierung. Die Form der Frostdelle ist mehr oder weniger rund oder auch gelappt. Ihre Oberfläche fühlt sich ein wenig härter an als die gesunde Schale, weil unter ihr eine kompakte, aber trocken-krümelige nekrotische Gewebemasse liegt, die — wie im Schnitt deutlich erkennbar ist (Abb. 5) — eine hellgraue bis weißliche

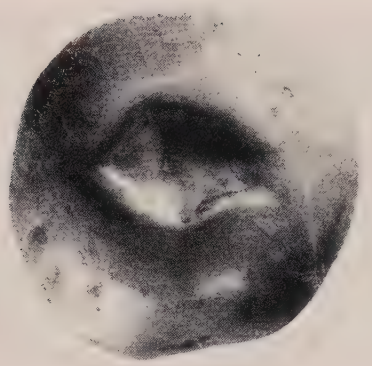

Abb. 4. Frostdelle

Abb. 5. Frostdelle. Schnitt durch Knolle der Abb. 4

Färbung und im allgemeinen eine Stärke von 0,5 mm bis etwa 1 cm aufweist. In seltenen Fällen dehnt sich die Nekrose über den Gefäßbündelring aus.

Im Anfangsstadium, etwa 24 Stunden nach Beendigung des Frostes, hat das Gewebe an dieser Stelle zunächst wäßriges Aussehen und schmutzig-gelbe Färbung. Es wird begrenzt durch einen schmalen 0,5—1,5 mm breiten, hellbraunen Streifen, der bei dünnschaligen und sauberen Kartoffeln auch schon von außen deutlich zu erkennen ist, und trocknet je nach den Lagerungsbedingungen relativ schnell ein; bei trockener Lagerung in etwa 5—6 Tagen. Dadurch sinkt die Schale ein. Es entsteht die äußerlich gut sichtbare Frostdelle. Das nekrotische Gewebe besteht in der Hauptsache aus Stärke, die die hellgraue Färbung hervorruft. Oftmals befindet sich zwischen dem im Anfangsstadium entstandenen hellbraunen Streifen und der endgültigen Frostdelle — wie ebenfalls im Schnitt deutlich wird (Abb. 6) — gesundes Gewebe, so daß dieser Streifen fast gleichmäßig in etwa 2—3 mm Abstand zur Frostdelle verläuft.

Abb. 6. Frostdelle mit braunen Randstreifen

Sein mikroskopisches Bild (Abb. 7) zeigt, daß er nur makroskopisch fast einheitlich als Streifen wirkt; in Wirklichkeit besteht er aus einzelnen braunen Konglomeraten von Zellbestandteilen mit oftmals körniger Struktur, die zwischen gesunden Zellen verteilt und eventuell auch in den Interzellularen zu finden sind. Färbung mit Gentianaviolett-Ammoniak ergab keine Suberinreaktion. Es handelt sich also nicht um eine Wundreaktion, wie zunächst angenommen werden könnte.

Die Wundkorkzone tritt immer in den ersten zur Frostdelle hin liegenden gesunden Zellagen auf. Voraussetzung ist allerdings, daß

die die Knolle umgebende Temperatur für die Korkablagerung an den Zellwänden zur Bildung der primären Korkzone(nachSchneider-Orelli, 1911, und Artschwager, 1927, je nach Sorte mindestens zwischen 0 ° und + 2,5 ° C) und für das Entstehen des Wundperiderms (nach Artschwager, 1927, je nach Sorte mindestens etwa + 7 ° C) hoch genug ist. Abbildung 8 zeigt einen solchen Wundverschluß. In der oberen Hälfte des Bildes weist die Zusammenballung von Stärkekörnern und Zellresten auf die dichte Struktur des nekrotischen Gewebes hin, das durch junge Wundperidermzellen vom gesunden Gewebe abgekapselt wurde.

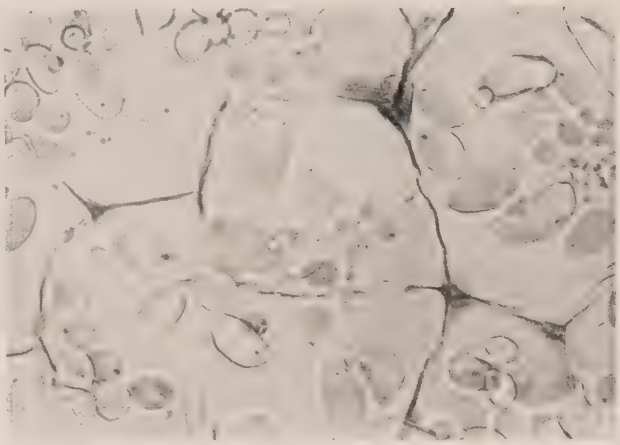

Abb. 7. Schnitt durch braunen Randstreifen der Frostdelle (180×)

Wenn flüssige Kohlensäure durch eine enge Düse mindestens 5 Minuten lang gegen eine Knolle gesprüht wird, entsteht nach dreitägiger Lagerung in Zimmertemperatur eine Schädigung, die dem Symptom der Frostdelle weitgehend ähnelt. Die nekrotische Zone ist lediglich etwas schmaler, und die Delle sinkt auf der Oberfläche der Knolle nur schwach ein, weil die Kohlensäure am Rand der besprühten Stelle eine allmählich abnehmende Kälte-

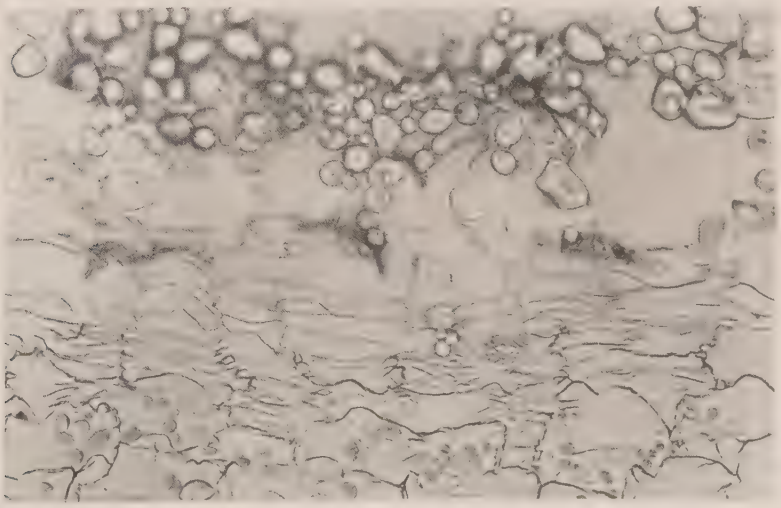

Abb. 8. Wundperiderm an einer Frostdelle (100×)

wirkung auslöste. Auf diese Weise läßt sich auch zeigen, daß alle Teile der Knollenoberfläche gegen diese Art der Frostschädigung gleichmäßig anfällig sind.

Frostdellen habe ich auch, wie überhaupt alle Symptome des Frostschadens, in Kartoffelpartien gefunden, die durch natürliche Kälteeinwirkung geschädigt waren.

Einer Verwechslung mit parasitären Knollenerkrankungen, wie z. B. der Alternaria- oder der Phoma-Trockenfäule, steht die überaus helle Färbung des nekrotischen Gewebes entgegen. Dagegen ähneln die durch Schlagschäden an Kartoffelknollen hervorgerufenen Symptome sehr den kleineren, runden bis ovalen Frostdellen.

Ein kurzer heftiger Schlag, wie er z. B. durch die Rundeisen des Schleuderrades der Kartoffelrodemaschinen bei zu großem Arbeitstempo auf Sandböden entstehen kann, ruft nicht nur Graufleckigkeit hervor, wie sie als Folge von Druck und Stoß bekannt ist, sondern es kann auch ein lokal begrenzter Teil des Gewebes so stark geschädigt werden, daß er abstirbt, austrocknet, Hohlräume bildet und nun genau so spröde-fest und hellgrau gefärbt erscheint, wie die Nekrose der Frostdelle. Auch die Schale ist eingesunken. Eine solche Schlagstelle nimmt allerdings immer eine rundliche bis ovale Form an (Abb. 9 und 10), die aber auch bei einer Frostdelle nicht ausgeschlossen ist.

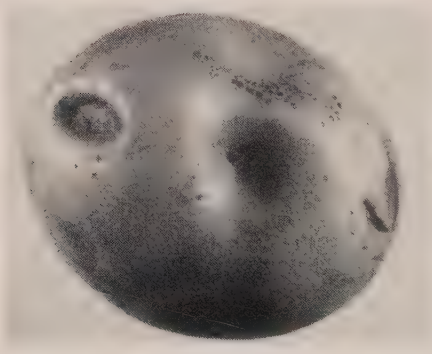

Abb. 9. Schlagschaden

Abb. 10. Schnitt durch einen Schlagschaden

Deshalb muß zur Unterscheidung beider Symptome die Lage des nekrotischen Gewebes herangezogen werden, das bei der Frostdelle immer unmittelbar unter der Schale liegt, beim Schlagschaden aber meist wie ein Fremdkörper im Rindenparenchym derart eingeschlossen ist, daß sich noch eine, wenn auch sehr schmale Zone gesunden Gewebes zwischen Nekrose und Schale findet (Abb. 10).

Wenn eine Knolle einem so starken Schlag ausgesetzt wird, daß auch die anscheinend weniger empfindlichen Zellagen unmittelbar unter der Schale angegriffen werden, dann wird im allgemeinen auch die Schale verletzt. Damit ist auch dieser Fall von dem Frostschaden zu unterscheiden.

c) Frostfleckigkeit

Kleine, runde, graue Flecke mit einem Durchmesser von 1—3 mm im Gewebe frostgeschädigter Kartoffelknollen werden als Frostfleckigkeit bezeichnet (Abb. 11).

Überschreiten die Flecke einen Durchmesser von 2 mm, so entstehen leicht kleine Hohlräume in ihnen. Eine Abkapselung dieser Stelle durch Wundperiderm konnte ich nicht beobachten. Meist treten diese Flecke zusammen mit einer Gefäßnekrose auf. Wenn sie allein vorkommen und, wie gelegentlich beobachtet werden konnte, nicht grau, sondern farblos sind, ist ihre Diagnose schwierig. Nur bei guter Beleuchtung sind dann die trockenen, weißlichen nekrotischen Stellen auf der Schnittfläche der betreffenden Knolle zu erkennen. Allerdings bleibt diese weiße Tönung nur etwa in den ersten vier Tagen nach Beendigung des Frostes bestehen; später beginnen Randzonen dieser kleinen Nekrosen oder einzelne Phloemgruppen oder auch die Flecke selbst, sich leicht gräulich anzufärben, so daß dann dieser Frostschaden beim Schneiden nicht mehr übersehen werden kann.

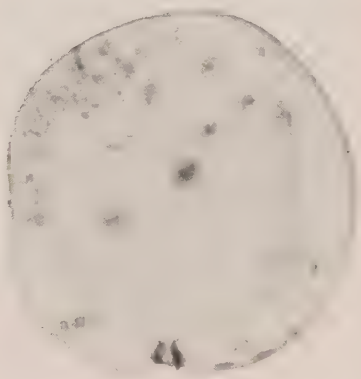

Abb. 11. Frostfleckigkeit

Zwischen den einzelnen Flecken besteht keine Verbindung. Sie scheinen Eisbildungszentren darzustellen, da sie nur auftreten, wenn Kartoffeln sehr schnell aus dem Frostbereich in wärmere Umgebung gelangen, eine eventuell gerade beginnende Eisbildung also plötzlich unterbunden wird.

Die Frostfleckigkeit hat mit der Graufleckigkeit als Folge von Druck und Stoß wenig gemeinsam, weil sich letztere immer über größere Zonen der Knolle ausdehnt als erstere. Die schädliche Auswirkung von Stoß und Druck kann nicht auf einen so kleinen Punkt beschränkt bleiben. Eine Verwechslung dieser beiden Erscheinungen ist deshalb nicht zu befürchten.

3. Schädigung der Gefäße

a) Ringnekrose

Unter Ringnekrose („ring necrosis"), einer von Jones und Bailey (1917) geprägten Bezeichnung, wird die durch Frosteinwirkung verursachte Nekrose des Gefäßbündelringes der Kartoffelknolle verstanden. Der Gefäßbündelring ist in diesem Fall braun, grau oder fast schwarz, meistens dunkelgrau verfärbt (Abb. 12). Wenn durch eine solche Knolle ein Tangentialschnitt in Höhe des Gefäßbündelringes gelegt wird, können die einzelnen Gefäßstränge leicht freigelegt werden; ihre Verfärbung wird dann besonders deutlich (Abb. 13).

Bei mikroskopischer Betrachtung des Schnittbildes solcher Gefäße wird ersichtlich, daß nicht die Tracheen selbst, sondern nur die anliegenden Zellen des Kambiums zerstört wurden. In Abbildung 14 ist neben der untersten Trachee ein brauner, nekrotischer Streifen deutlich erkennbar.

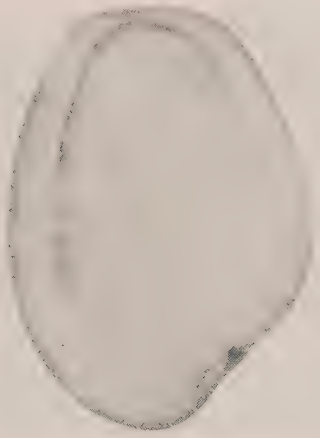

Abb. 12. Ringnekrose

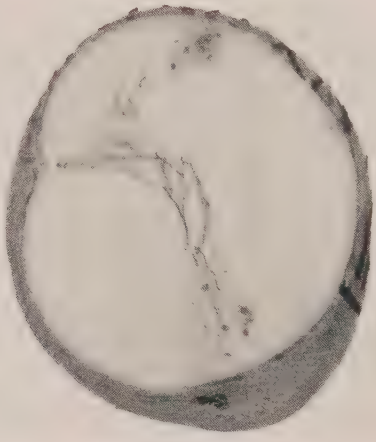

Abb. 13. Tangentialschnitt durch Ringnekrose

In den meisten Fällen wird aber ein etwas weiterer Bereich der dem Gefäßbündelring benachbarten Parenchymzellen in Mitleidenschaft gezogen, so daß die Nekrose, die gelegentlich Hohlräume enthalten kann, nicht auf den Gefäßbündelring allein beschränkt bleibt, dieser aber immer noch als Zentrum des Schadens erkennbar ist (Abb. 15). Einen solchen Fall rechnen Jones et al. (1919) auch zu den „blotches", die bereits bei Beschreibung der Marmorierung erwähnt wurden. Und tatsächlich verschwimmen hier die Grenzen zwischen einer starken Ringnekrose mit umfangreicher Schädigung des angrenzenden Parenchyms und einem späteren Stadium der Marmorierung.

Eine schwache Ringnekrose kann, vor allem wenn sie einen braunen Farbton aufweist, leicht mit einer anderen, pathologisch freilich bedeutungslosen Erscheinung verwechselt werden, auf die hier kurz einzugehen ist. Der Gefäßbündelring gesunder Kartoffeln kann gelegentlich vom Nabel ausgehend eine mehr oder weniger große Strecke zum Knolleninnern hin leicht braun

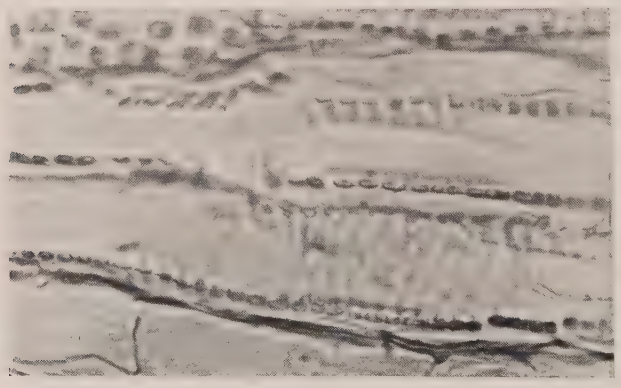

Abb. 14. Ringnekrose im Schnitt (336×)

gefärbt sein. Dieser Erscheinung wird in der Praxis wenig Beachtung geschenkt, da sie erfahrungsgemäß keinen Einfluß auf den Pflanzwert der Knollen ausübt. Betrachtet man einen Schnitt durch einen solchen Gefäßbündelring im Mikroskop (Abb. 16), so wird der Unterschied zur Frostnekrose sofort deutlich. Nur wenige Tracheen sind mit einer braungefärbten Substanz angefüllt und verstopft. Der größte Teil der Gefäße ist aber in normalem Zustand und funktionsfähig, was die Unschädlichkeit dieser oft zu beobachtenden Erscheinung erklärt. Besteht also gelegentlich Zweifel, ob eine Gefäßringverfärbung auf Frost zurückzuführen ist oder auf dieser nichtparasitären, unschädlichen Tracheenverstopfung beruht, so schafft die mikroskopische Untersuchung sofort Klarheit.

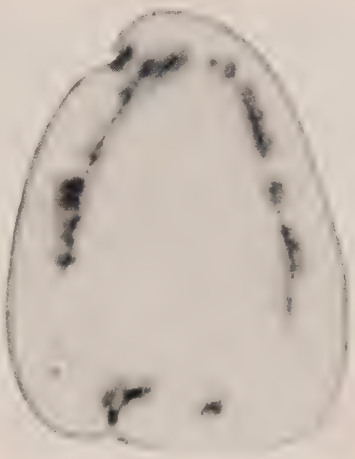

Abb. 15. Starke Ringnekrose

b) Netznekrose

Als ein schwererer Grad der durch Frost verursachten Gefäßnekrose ist die „Netznekrose" („net necrosis") anzusehen. Auch dieser Ausdruck stammt von Jones und Bailey (1917). Die Netznekrose entsteht durch Verfärbung der die Knolle bis zum inneren Mark in zahlreichen einzelnen Strängen durchziehenden Phloemstränge, so daß das Knollenfleisch netzartig gezeichnet erscheint (Abb. 17). Die Rindenschicht bleibt vielfach symptomlos. Doch ist dies nicht die Regel, denn auch die Rinde wird von Phloemsträngen durchzogen, die durch Gefrieren geschädigt werden können.

Abbildung 18 zeigt eine Phloemnekrose im mikroskopischen Bild, das die Stärke eines solchen Schadens erst besonders verdeutlicht im Vergleich zu einer gesunden Phloemgruppe (Abbildung 19).

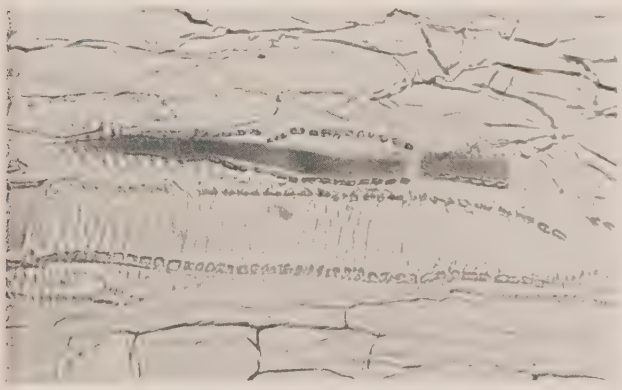

Abb. 16. Nicht durch Frost verursachte Gefäßbräunung (180×)

Knollen mit Netznekrose werden einige Wochen nach der Frosteinwirkung abnorm fest und glasig; ihr Fleisch verliert seine gelbe Färbung und bekommt ein weißliches Aussehen.

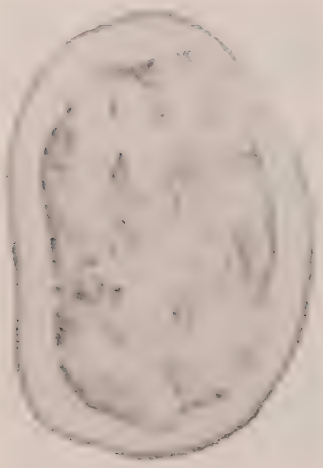

Abb. 17. Nutznekrose

Wenn diese Knollen beschädigt werden, fallen sie leicht saprophytischen Organismen zum Opfer, da ihr Wundreaktionsvermögen sehr stark gehemmt ist. Auf diese Frage wird im Zusammenhang mit der Betrachtung der Lagerungsfähigkeit frostgeschädigter Kartoffelknollen im zweiten Teil dieser Arbeit noch näher eingegangen werden.

Allen genannten Symptomen liegt als Ursache Eisbildung in den betreffenden Gewebekomplexen zugrunde. Jones et al. (1919), Wright und Taylor (1921), Wright und Harvey (1921) und Wright und Diehl (1927) haben bereits auf diesen Zusammenhang hingewiesen. Es läßt sich auch in einem einfachen Versuch nachweisen. Wie bereits bei Besprechung der Literatur zum Kältetod der Kartoffelknolle erwähnt wurde, läßt sich in einer unterkühlten Knolle durch Schlag Eisbildung hervorrufen. Ich lagerte Kartoffeln der Sorte Bona von einem Knollengewicht zwischen 70 und 80 Gramm 55 Minuten lang bei -7^{0} C, versetzte ihnen noch in der Kälte mit einem Stock von 1,5 cm Durchmesser einen starken Schlag und brachte sie nach fünf Minuten ins Warme. Nach 24stündiger Warmlagerung zeigten sie die verschiedenen Frostnekrosen. Der Vorgang ist in zahlreichen Versuchen mit demselben Ergebnis wiederholt worden. Der Transport aus der Kältekammer erfolgte unter größter Vorsicht, um zusätzliche Erschütterungen zu vermeiden. Als

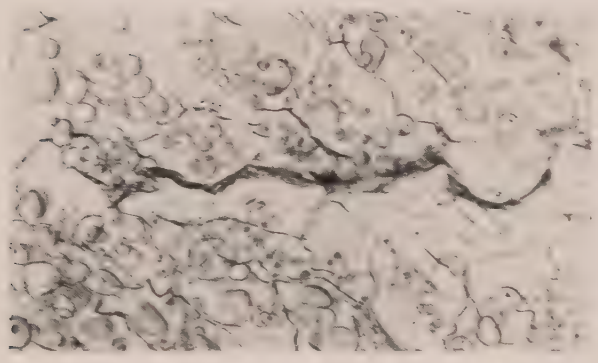

Abb. 18. Nutznekrose im Schnitt (90 ×)

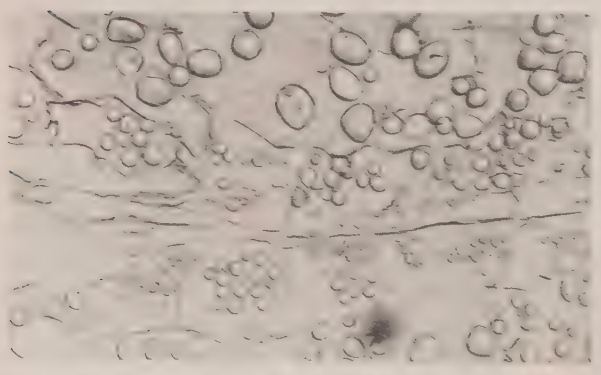

Abb. 19. Schnitt durch gesunde Phloemgruppe (90 ×)

Kontrolle dienten Kartoffeln, die zur gleichen Zeit derselben Behandlung unterworfen wurden, nur mit dem Unterschied, daß sie nicht geschlagen wurden. Sie blieben ohne jedes Symptom. Wichtig ist nur, daß für die Schlagbehandlung empirisch gerade derjenige Zeitpunkt gefunden wird, zu dem alle Knollen unterkühlt sind, sich also noch kein Eis in ihrem Gewebe gebildet hat. Diesen Zeitpunkt möchte ich als den „Schlagpunkt" bezeichnen, auf den ich später noch zurückkomme. Er begrenzt also die Dauer einer Frosteinwirkung, bei welcher alle Knollen unterkühlt sind und auf Schlag mit Eisbildung reagieren; bei ihrer Überschreitung beginnt automatische Eisbildung.

Die vorangegangene Symptomatologie hat nur diejenigen Krankheitssymptome berücksichtigt, die durch Frosteinwirkung entstehen. Am Rande soll hier noch eine bisher nur in Amerika beobachtete Erscheinung erwähnt werden, die Hilborn und Bonde (1942) und Folsom (1947) als „internal mahogany browning" und Richardson und Phillips (1949) als „low temperature breakdown" bezeichnet haben. Sie verstehen darunter Schäden, die sich in Kartoffeln, die bei Temperaturen knapp über 0° C lagen, nach mindestens zwei Monaten zeigen können. Sie äußern sich in zerstreut im Gewebe auftretenden, anfangs rötlich bis braunen, später dunkelbraunen bis fast schwarzen Verfärbungen. Sie stellen keine Frostschäden dar. Man kann sie mit jenen Schädigungen vergleichen, die sich in der Hauptsache an stark kälteempfindlichen Pflanzen einstellen können, wenn sie „erfrieren, ohne zu gefrieren" (S. 199).

C. Entstehungsbedingungen der Symptome

Bei der Mannigfaltigkeit der Syptome von Frostschäden an Kartoffelknollen erhebt sich die Frage, ob Stärke und Zeit der Frosteinwirkung den Typ des resultierenden Knollenschadens beeinflussen. Damit verbindet sich eine zweite, für die Praxis besonders bedeutungsvolle Frage: Wann sind die Symptome nach dem Auftauen frühestens zu erkennen?

Zunächst fällt auch hier ins Auge, daß die Anfälligkeit der Knollen starke individuelle Unterschiede aufweist. Selbst bei verhältnismäßig starker Frostbehandlung bleiben immer einzelne Knollen gesund. Allerdings steigt mit der Dauer der Behandlung auch die Zahl der geschädigten Knollen. Das beweist ein Versuch, dessen Ergebnisse in Abb. 20 als Kurve aufgezeichnet sind. Eine Temperatur von — 3,5 ° C während einer Dauer bis zu 220 Stunden läßt den

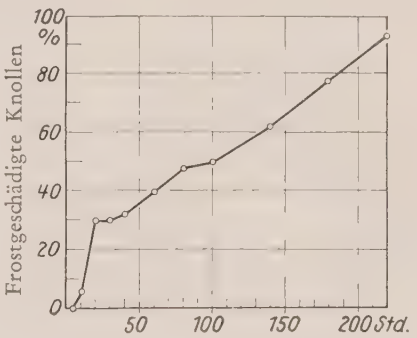

Abb. 20. Einfluß der Frostdauer auf die Anzahl geschädigter Kartoffelknollen. Sorte: Bona. Knollengröße: 40—50 g. Anzahl Kartoffeln je Behandlungszeit: 50 Knollen

Prozentsatz frostgeschädigter Knollen stetig ansteigen. Aber selbst nach einer Behandlung von 220 Stunden waren noch 7,5 % der Knollen ungeschädigt. Die individuellen Unterschiede sind also eindeutig.

Betrachtet man nur die geschädigten Knollen, so zeigt sich, daß sowohl die Dauer des Frostes als auch die Höhe der einwirkenden Temperatur einen gewissen Einfluß auf die Art des auftretenden Symptoms haben. Mit zunehmender Dauer des Frostes steigt die Anzahl der „saftig-weichen", also der am stärksten geschädigten Knollen. Verkürzte Frostbehandlung ermöglicht die Ausbildung der anderen Symptome.

Die Frostdauer kann jedoch nicht unabhängig von der Höhe der Temperatur betrachtet werden.

Es wurden Versuche durchgeführt, in denen die Behandlungszeit bei einer Temperatur von — 3,5° C auf 20, 30 und 40 Stunden (je Behandlungszeit etwa 250 Knollen) und bei einer Temperatur von — 7° C auf 105 Minuten (700 Knollen) begrenzt wurde. In diesen vier Versuchsgruppen wurden jeweils etwa die Hälfte der behandelten Knollen geschädigt. Mit steigender Frosttemperatur muß also die Zeit der Einwirkung abnehmen, wenn jeweils die gleiche Schadensrate erhalten werden soll.

Gliedert man die geschädigten Partien nach den Symptomtypen auf, so zeigen die beiden Behandlungstemperaturen eine außerordentliche Verschiebung der Hauptschäden. Die geringere Kälte (— 3,5° C) schädigte die Knollen bis auf ganz wenige Ausnahmen entweder gar nicht oder letal. Eine Änderung der Behandlungsdauer um jeweils zehn Stunden veränderte zwar das Zahlenverhältnis zwischen geschädigten und ungeschädigten Kartoffeln etwas, aber die Symptomtypen blieben immer die gleichen.

Nach stärkerem Frost (— 7° C) dagegen liegen die Schäden alle im Bereich der Frostnekrosen (Frostdelle, Frostfleckigkeit und Gefäßnekrosen). Eine Ausnahme machen hier nur die kleineren Knollen mit letalen Schäden, da sie infolge der geringeren Masse schneller von der Kälte durchdrungen werden. Müller-Thurgau (1886) wies schon darauf hin, daß Kambium und Gefäße sich weniger gut als andere Partien der Knolle unterkühlen lassen. Diese unterschiedliche Unterkühlungsfähigkeit der Gewebearten scheint sich bei tieferen Temperaturen besser zu differenzieren, vermutlich weil sie plötzlich und stark unterkühlt werden. Voraussetzung ist allerdings, daß die Kälteeinwirkung aufhört, bevor auch die weniger schnell gefrierenden Gewebe geschädigt werden. Denn beispielsweise mit einer Behandlungsdauer von vier Stunden bei — 7° C erzielte ich schon die ersten saftig-weichen Knollen, und nach fünf Stunden waren alle gänzlich erfroren.

Letale Knollenschäden treten also bei jeder Temperatur auf, die unter dem Gefrierpunkt der Knollen liegt, wenn der Frost lange genug andauert. Lokale Schädigungen des Parenchyms und der Gefäße sind hauptsächlich dann zu erwarten, wenn die Temperaturen plötzlich tief absinken und, bevor letale Schäden eingetreten sind, wieder ansteigen.

Diese Feststellung beschränkt sich allerdings auf die drei Hauptgruppen der von mir beschriebenen Frostsymptome. Für die einzelnen Symptomtypen

innerhalb dieser Gruppen konnten dagegen keine speziellen Beziehungen zu den Kältebehandlungen gefunden werden.

Für die symptomatologische Beurteilung von Frostschäden ist von ausschlaggebender Bedeutung, wieviel Zeit nach Beendigung des Frostes verstreichen muß, bis die Symptome mit Sicherheit erkennbar sind. Jones et al. (1919) haben gefunden, daß die Verfärbungen frostgeschädigter Gewebe nach 12 bzw. 6 Stunden beendet waren, wenn die Knollen nach der Behandlung bei 15° C bzw. 30° C gelagert worden sind. Wright und Taylor (1921) bonitierten ihre Versuchsknollen 24 Stunden nach Beendigung des Frostes. Wright und Diehl (1927) glauben, daß sich die Symptome in den ersten vier bis fünf Tagen nach der Behandlung noch verändern können.

Die Ergebnisse meiner eigenen Versuche zu dieser Frage sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Die Knollen wurden nach Beendigung der Frosteinwirkung bei 4° C und bei 26° C und bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 70 % gelagert. Sofort nach Abschluß der Frosteinwirkung sind nur die total erfrorenen Knollen zu erkennen, weil sie entweder noch steinhart gefroren oder nach dem Auftauen des in den Knollen entstandenen Eises sofort saftig-weich sind. Alle übrigen Symptome werden erst nach einer gewissen Zeitspanne erkennbar, die etwas unterschiedlich ist einmal für die Symptome, zum anderen für die Lagerungstemperatur. Warme Lagerung kann beschleunigend wirken. Ringnekrosen treten am schnellsten auf, Marmorierung und Netznekrosen am spätesten, während die übrigen Symptome sich dazwischen eingliedern.

Tabelle 2

Zeitraum der Ausbildung der Frostsymptome

Symptom	Stunden nach der Behandlung, in denen das Symptom deutlich erkennbar auftreten kann	
	Lagerung nach der Behandlung bei	
	4° C	26° C
saftig-weich	sofort nach Auftauen	sofort nach Auftauen
gummiartig-weich	8—16 Std.	2— 8 Std.
Marmorierung	14—24 Std.	14—24 Std.
Frostdelle (1. Stadium)	4—20 Std.	4—20 Std.
Frostfleckigkeit	4—16 Std.	2—12 Std.
Ringnekrose	1—20 Std.	1—20 Std.
Netznekrose	14—72 Std.	4—36 Std.

Es muß aber damit gerechnet werden, daß die Frostschäden noch bis 24 Stunden, die Netznekrose sogar bis 72 Stunden, nach Abschluß der Behandlung erstmalig erkennbar werden.

Die von Jones et al. (1919) vertretene Temperaturabhängigkeit der Verfärbungen wird also durch meine Versuchsergebnisse nicht in jedem Fall bestätigt; sie besteht jedoch insofern, als die im allgemeinen grau gefärbten Gefäßnekrosen, sobald die Kartoffeln bei 4° C gelagert werden, in den ersten Tagen nach der Behandlung rötlichbraun bis braun ausfallen.

Wenn Wright und Diehl (1927) innerhalb der ersten vier bis fünf Tage nach dem Auftauen laufend neue Netznekrosen gefunden haben, so stehen meine Beobachtungen damit im Einklang. Die Netznekrose ist aber auch das einzige Symptom, das etwas längerer Zeit zu seiner Ausprägung bedarf. Trotzdem ist auch eine solche Knolle ebenso frühzeitig als frostgeschädigt zu erkennen wie Knollen mit anderen Frostsymptomen, weil einer späten Netznekrose regelmäßig eine frühzeitig erkennbare Ringnekrose vorangeht.

Die von Wright und Taylor (1921) empfohlene Methode, die Kartoffeln nach einer dem Abschluß der Frosteinwirkung folgenden 24-stündigen Lagerung etwa bei Zimmertemperatur zu bonitieren, kann deshalb als zweckentsprechend anerkannt werden.

In der Praxis freilich wird man bei der Beurteilung von Kartoffellieferungen, die ja vor dem Ausladen vorgenommen werden muß, nicht 24 Stunden Tauwetter abwarten können, zumal diese wahrscheinlich noch nicht einmal ausreichen, um die Kartoffeln in dem Transportmittel hinreichend zu erwärmen. In Abschnitt XIV (Richtlinien für die Begutachtung von Kartoffeln) der Kartoffelgeschäftsbedingungen von 1948, S. 44, wird deshalb zur Erkennung angefrorener Kartoffeln empfohlen, verdächtige Knollen zehn bis zwanzig Minuten auf einer Ofenplatte oder Heizung zu erwärmen. Dadurch würde das geschädigte Gewebe weich. Diese Methode ist für die Beurteilung von Partien, die sich noch nicht über 0^0 C erwärmen konnten, ein ausgezeichnetes Hilfsmittel, wenn zusätzlich auch das Vermögen erfrorener Gewebezonen, sich etwa zwanzig Minuten nach dem Schneiden rötlichbraun zu verfärben (S. 204), Beachtung findet. Leichtere Frostschäden können bei diesem Vorgehen aber übersehen werden.

D. Hinweis für die Unterscheidung alter und jüngerer Frostschäden

Bei der Beurteilung einer Kartoffelpartie, die durch Frosteinwirkung gelitten hat, spielt in der Praxis die Frage, ob es sich um „alte" oder „neue" Frostschäden handelt, eine wichtige Rolle, da Schäden, die auf dem Transport entstehen, als Transportgefahr zu Lasten des Empfängers gehen, wenn der Verlader die Ware „ordnungsgemäß" vor Frost geschützt hat (Frankfurter Bedingungen 1950, § 4 [9]). Für „alte" Frostschäden dagegen, die schon vor dem Transport entstanden sind, haftet der Verlader (Hilken und Renk, 1953, S. 146).

Hilken und Renk (1953, S. 147) halten Knollen, die bei Ankunft des Transportmittels schon weich sind, für „alte" Frostschäden und glauben, „neuen" Frost an noch harten und trockenen, erfrorenen Knollen erkennen zu können. Dem muß widersprochen werden, denn eine erfrorene Knolle ist sofort nach dem Auftauen bereits weich, so daß die weiche oder harte Beschaffenheit der Kartoffel nicht als Kriterium für den vermutlichen Zeitpunkt der Frosteinwirkung angesehen werden darf.

Richtig ist dagegen die Forderung von HILKEN und RENK zu prüfen, ob frostgeschädigte Knollen nur auf der Oberfläche und an zugigen Stellen der Ladung gefunden werden, was auf „neuen" Frostschaden hinweist, oder ob sie sich in der gesamten Partie verteilen.

Ist auf diesem Weg keine Klarheit zu schaffen, dann stehen noch einige symptomatologische Hilfsmittel zur Verfügung:

1. Ring- oder Netznekrose in einer saftig-weichen Knolle beweist, daß die Knolle mit altem Schaden (Gefäßnekrose) ein zweites Mal Frosttemperaturen ausgesetzt gewesen ist, durch welche sie erfror.

2. Werden saftig-weiche Knollen ohne Beschädigung ihrer Schale oben auf der Partie gefunden, so sind sie während des Transports erfroren, da sie ein Verladen niemals heil überstehen würden.

3. Geschnittene und für gesund erachtete Knollen sind eine Stunde nach der Bonitierung nochmals anzusehen, um eventuell Verfärbungen durch Melaninbildung an ganz jungen, sofort nach dem Schnitt noch nicht erkennbaren Frostschäden auf der Schnittfläche feststellen zu können. Das ist auch zu empfehlen, wenn sich ältere, etwas welke Knollen von gummiartig-weichen Knollen schwer unterscheiden lassen.

4. Frostdelle und Marmorierung erlauben je nach ihrer Ausprägung, wie früher gezeigt wurde, gewisse Schlüsse auf das Alter des Frostschadens.

Literaturverzeichnis

ÄKERMAN, A., 1919: Über die Bedeutung der Art des Auftauens für die Erhaltung gefrorener Pflanzen. Botaniska Notiser, S. 49—64 u. 105—126.

APELT, A., 1907 u. 1909: Neue Untersuchungen über den Kältetod der Kartoffel. Diss. Halle a. S. 1907 und COHNS Beitr. z. Biologie der Pflanzen **9**, 215—261.

ARTSCHWAGER, E., 1927: Wound periderm formation in the potato as affected by temperature and humidity. J. agric. Res. **35**, 995—1000.

BARTHOLOMEW, E. T., 1913: Black heart of Potatoes. Phytopathology **3**, 180—182.

— —, 1915: A pathological and physiological study of the black heart of potato tubers. Zbl. Bact. II. Abt., **43**, 609—639.

BELKIN, N. I., 1951: Fermentative Merkmale der Frosthärte der Winterweizen in Zusammenhang mit Abhärtung und Düngung. Biochimija **16**, 429—434 (russisch). Ref. in Ber. wiss. Biol 1952, 77, 268.

BOAS, F. und MERKENSCHLAGER, F., 1925: Pflanzliche Tyrosinasen. Biochem. Z. **155**, 197—227.

BRAUN, H., 1932: Herznekrosen der Kartoffelknolle. Die Kartoffel **14**, 13—16.

— —, 1949: Die Symptomatologie als vordringliche Aufgabe der Pflanzenpathologie. Z. Pflanzenkrankh. **56**, 1—6.

CASPARY, R., 1854: Auffallende Eisbildung auf Pflanzen. Bot. Ztg. **12**, 665—674, 681—690, 697—706.

DALMER, W., 1895: Über Eisbildung in den Pflanzen mit Rücksicht auf die anatomische Beschaffenheit derselben. Flora **80**, 436.

DETMER, W., 1886: Über die Zerstörung der Molekularstruktur des Protoplasmas der Pflanzenzellen. Bot. Ztg. **44**, 513—524.

EDGERTON, L. J. and HARRIS, R. W., 1950: Effect of nitrogen and cultural treatment on Elberta peach fruit bud hardiness. Proc. Amer. Soc. horticult. **55**, 51—55. Ref. in Ber. wiss. Biol. 1951, **72**, 46.

Folsom, D., 1947: Inheritance of predisposition of potato varieties to internal mahogany browning of the tubers. Amer. Potato J. **24**, 294—298.

Frank, A. B., 1895: Die Krankheiten der Pflanzen. Bd. I, 2. Aufl. Verl. Ed. Trewendt, Breslau.

Frankfurter Bedingungen 1950, Richtlinien für die Geschäftsbedingungen beim Geschäftsverkehr mit Kartoffeln. Verl. Die Kartoffelwirtschaft, Hamburg, Schriften für die Kartoffelwirtschaft, H. 10, 33 S.

Göppert, H. R., 1830: Über die Wärmeentwicklung in den Pflanzen, deren Gefrieren und die Schutzmittel gegen dasselbe. Verl. Josef Max u. Co., Breslau.

— —, 1871: Wann stirbt die durch Frost getötete Pflanze, zur Zeit des Gefrierens oder im Moment des Auftauens? Bot. Ztg. **29**, 399—402.

— —, 1883: Über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen und Schutzmittel dagegen. Verl. Ferd. Enke, Stuttgart.

Gorke, H., 1907: Über chemische Vorgänge beim Erfrieren der Pflanzen. Landw. Versuchsstationen **65**, 149—160.

Hall, C. J. J. van, 1902: *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn und *Bacillus vulgatus* (Flügge) Mig. als Pflanzenparasiten. Zbl. Bact. II. Abt., **9**, 642—652.

Harvey, R. B., 1918: Hardening process in plants and developments from frost injury. J. agric. Res. **15**, 83—112.

Hilborn, M. T. and Bonde, R., 1942: A new form of low-temperature injury in potatoes. Amer. Potato J. **19**, 24—29.

Hilken, H., 1954: Über unterkühlte Knollen. Kartoffelbau **5**, 97—98.

— — und Renk, O., 1953: Kommentar zu den Kartoffel-Geschäftsbedingungen (Frankfurter Bedingungen 1950). Landw. Verl. Th. Mann, Hildesheim, 219 S.

Hiltner, E., 1933: Klima und Witterung als Ursache nichtparasitärer Krankheiten. Handb. f. Pflanzenkrankheiten, Bd. I, 1. Teil, 6. Aufl. Verl. Paul Parey, Berlin, 318—474.

Hoefft, F. von, 1920: Colorimetrische Untersuchungen an Melaninen. Biochem. Z. **104**, 1—8.

Iljin, W. S., 1934: The point of death of plants at low temperatures. Bull. de L'Assoc. russe pour les Recherches Scientifiques a Prague **1 (6)**, 135—160.

Irmscher, E., 1912: Über die Resistenz der Laubmoose gegen Austrocknung und Kälte. Jb. wiss. Bot. **50**, 387—449.

Jones, L. R. and Bailey, E., 1917: Frost nekrosis of potato tubers. Phytopathology **7**, 71—72.

— —, Miller, M. and Bailey, E., 1919: Frostnecrosis of potato tubers. Wisc. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. **46**.

Juul, F., 1949: Studien über die Dunkelfärbung der Kartoffeln nach dem Kochen. Diss. Techn. Hochsch. Kopenhagen. Ref. in Ber. wiss. Biol. 1949/50, **67**, 37.

Kartoffel-Geschäftsbedingungen in der Fassung vom 1. 9. 48. Verl. Wirtschaft und Sozialpolitik, Hamburg, Schriften für die Kartoffelwirtschaft, H. 5, 1948, 64 S.

Kessler, W. und Ruhland, W., 1938: Weitere Untersuchungen über die inneren Ursachen der Kälteresistenz. Planta **28**, 159—204.

Kičigin, A. A., 1953: Zum Problem der möglichen Maßnahmen zur Erhöhung der Festigkeit der jungen Saaten von Sommergetreidekulturen gegenüber Frühlingsfrösten. Dokl. Akad. Nauk SSSR, N. S., **88**, 153—156 (russisch). Ref. in Ber. wiss. Biol. 1953, **84**, 303.

Kunisch, H., 1880: Über die tödliche Einwirkung niederer Temperaturen auf die Pflanzen. Diss. Breslau (zit. nach Wartenberg, 1933).

Lakon, G., 1942: Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit der Getreidefrüchte durch Tetrazoliumsalze. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **60**, 299—305.

— —, 1942: Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit von Mais durch Tetrazoliumsalze. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **60**, 434—444.

Lemke, H., 1954: Frostnekrose und Unterkühlung bei Pflanzkartoffeln. Kartoffelbau **5**, 123—125.

Lepeschkin, W. W., 1910: Zur Kenntnis der Plasmamembran I. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **28**, 91—103.

Lidforss, B., 1896: Zur Physiologie und Biologie der wintergrünen Flora. Bot. Zbl. **68**, 33—44.

Lottermoser, A., 1908: Über das Ausfrieren von Hydrosolen. Ber. Dtsch. Chem. Ges., 41. Jg., Band III, 3976—3979.

Ludwig, F., 1899: Weitere Beobachtungen über die Biologie von *Helleborus foetidus*. Bot. Zbl. **80**, 405—413.

Maximow, N. A., 1914: Experimentelle und kritische Untersuchungen über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen. Jb. wiss. Bot. **53**, 327—420.

— —, 1929: Internal factors of frost and drought resistance in plants. Protoplasma **7**, 259—291.

Meyen, F. J. F., 1841: Pflanzenpathologie. Haude und Spenersche Buchhandl., Berlin.

Mez, C., 1905: Neue Untersuchungen über das Erfrieren eisbeständiger Pflanzen. Flora od. Allg. bot. Ztg. **94**, 89—123.

Möbius, M., 1907: Die Erkältung der Pflanzen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **25**, 67—70.

Molisch, H., 1897: Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Verl. Gustav Fischer, Jena.

— —, 1918: Pflanzenphysiologie als Theorie der Gärtnerei. 2. Aufl. Verl. G. Fischer, Jena.

Müller-Thurgau, H., 1880: Über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen, I. Teil. Landw. Jb. **9**, 133—189.

— —, 1882: Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels in stärkehaltigen Pflanzenorganen. Bot. Zbl. **9**, 198—203.

— —, 1882: Über Zuckeranhäufung in Pflanzenteilen infolge niederer Temperatur. Landw. Jb. **11**, 751—828.

— —, 1886: Über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen, II. Teil. Landw. Jb. **15**, 453—610.

Münter, J., 1846: Die Krankheiten der Kartoffel, insbesondere die im Jahre 1845 pandemisch herrschende nasse Fäule. Verl. Aug. Hirschwald, Berlin.

Nägeli, C., 1861: Über die Wirkung des Frostes auf die Pflanzenzellen. Sitzber. d. Königl. Akad. Wiss. München, 267 (zit. nach Wartenberg, 1938).

Newton, R., 1924: The nature and practical measurement of frost resistance in winter wheat. Univers. Alberta. Coll. Agric. Res. Bull. **1**.

Ochi, H., 1952: The preliminary report on the osmotic value, permeability, drought and cold resistance of mosses. Bot. Mag. (Tokyo) **65**, 10—12. Ref. in Ber. wiss. Biol. 1953, **80**, 92.

Pfeffer, W., 1904: Pflanzenphysiologie. II. Band. Verl. Engelmann, Leipzig.

Pisek, A., 1950: Frosthärte und Zusammensetzung des Zellsaftes bei *Rhododendron ferrugineum*, *Pinus cembra* und *Picea excelsa*. Protoplasma **39**, 129—146.

Prillieux, 1869: Sur la formation de glaçons à l'intériéur des plantes. Annal. d. sciences naturelles, V. Serie, vol. 13, Botanique T. XII, 125—134 (zit. nach Wartenberg, 1933).

Rein, R., 1908: Untersuchungen über den Kältetod der Pflanzen. Diss. Halle.

Richardson, L. T. and Phillips, W. R., 1949: Low temperature breakdown of potatoes in storage. Sci. Agr. **29**, 149—166.

Sachs, J., 1860: Kristallbildungen beim Gefrieren und Veränderung der Zellhäute bei dem Auftauen saftiger Pflanzenteile. Ber. mathem.-phys. Kl. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss.

— —, 1860: Bericht über die physiologische Tätigkeit an der Versuchsstation in Tharandt. III. Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Landw. Versuchsstationen **2**, 167—201.

— —, 1874: Lehrbuch der Botanik. 4. Aufl. Verl. Wilh. Engelmann, Leipzig.

— —, 1892: Gesammelte Abhandlungen über Pflanzenphysiologie, Bd. I, 1. Abt., Verl. Wilh. Engelmann, Leipzig.

Schaffnit, E., 1910: Studien über den Einfluß niederer Temperaturen auf die pflanzliche Zelle. Mitt. Kaiser-Wilh.-Inst. Landw. Bromberg **3**, 93—144.

Schaffnit, E., 1911: Über den Einfluß niederer Temperaturen auf die pflanzliche Zelle. Z. allg. Physiol. **12**, 323—336.

— — und Lüdtke, M., 1932: Beiträge zur Kenntnis von Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle. Phytopath. Z. **4**, 329—386.

Schander, R. und Schaffnit, E., 1919: Untersuchungen über das Auswintern des Getreides. Landw. Jb. **52**, 1—66.

Schneider-Orelli, O., 1911: Versuche über Wundreiz und Wundverschluß an Pflanzenorganen. Zbl. Bakt., II. Abt. **30**, 420—429.

Schumacher, W., Fitting, H., Harder, R. und Firbas, F., 1954: Lehrbuch der Botanik. 26. Aufl. Verl. Gustav Fischer, Stuttgart.

Seemann, J., 1942: Über die Bedeutung der Unterkühlung für die Selektion frostresistenter Bohnenpflanzen. Der Züchter **14**, 258—264.

Sellschop, I. P. F. and Salmon, S. C., 1928: The influence of chillings, above the freezing point, on certain crop plants. J. agric. Res. **37**, 315—338.

Siminovitsch, D. and Briggs, D. R., 1949: The chemistry of the living bark of the black locust tree in relation to frost hardiness. I. Seasonal variations in protein content. Arch. of Biochem. **23**, 8—17. Ref. in Ber. wiss. Biol. 1950, **69**, 297.

Singh, B. N. and Mathur, P. B., 1938: Artificial production of "bleack-heart" in potato tubers. Phytopathology **28**, 705—708.

Stille, B., 1950: Untersuchungen über den Kältetod von Mikroorganismen. Arch. Mikrobiol. **14**, 554—587.

— —, 1953: Zur Frage des TTC-Reduktionsvermögens hitzegetöteter Colibakterien. Zbl. Bakt., Parasitenk., Infektionskrankh. u. Hygiene, II. Abt., **107**, 250—254.

Stolp, H., 1952: Über das scheinbare Versagen des Tetrazoliumtestes bei *Bacterium coli*. Arch. Mikrobiol. **17**, 209—212.

Ullrich, H., 1943: Biologische Kältewirkungen und plasmatische Frostresistenz. (Unter besonderer Berücksichtigung der Pflanzen.) Protoplasma **38**, 165—183.

— — und Mäde, A., 1940: Studien über die Ursachen der Frostresistenz. II. Untersuchungen über den Temperaturverlauf beim Gefrieren von Blättern und Vergleichsobjekten. Planta **31**, 251—262.

— — und van Veen, P., 1942: Weitere Untersuchungen über das Ausfrieren von Kolloiden und Kolloidgemischen im Hinblick auf die plasmatische Frostresistenzforschung an Pflanzen. Kolloid-Z. **100**, 388—400.

Vaughan, R. E. and Miller, M., 1919: Freezing injuries to potato tubers. Extens. Serv. Coll. Agr. Univers. Wisconsin, Circ. 120.

Voigtländer, H., 1909: Unterkühlung und Kältetod der Pflanzen. Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanzen **9**, 359—414.

Wallhäuser, K. H., 1951: Die antibiotischen Beziehungen einer natürlichen Mikroflora. Arch. Mikrobiol. **16**, 201—236.

Walter, H. und Weismann, O., 1936: Über die Gefrierpunkte und osmotischen Werte lebender und toter pflanzlicher Gewebe. Jb. wiss. Bot. **82**, 273—310.

Wartenberg, H., 1933: Kälte und Hitze als Todesursache der Pflanze und als Ursache von Pflanzenkrankheiten. Handb. f. Pflanzenkrankh., Bd. I, 1. Teil, 6. Aufl., 475—592.

— —, 1938: Studien über den Kältetod der Pflanzen. Ernährung d. Pflanze **34**, 21—27.

— —, 1939: Untersuchungen über den Kältetod der Pflanzen. Landw. Jb. **87**, 605.

Wright, R. C. and Diehl, H. C., 1927: Freezing injury to potatoes. U. S. Dept. Agr. Techn. Bull. Nr. 27.

— — and Harvey, R. B., 1921: The freezing point of potatoes as determined by the thermoelectric method. U. S. Dept. Agr., Bull. Nr. 895.

— — and Taylor, G. F., 1921: Freezing injury to potatoes when undercooled. U. S. Dept. Agr., Bull. Nr. 916.

— — and — —, 1923: The freezing temperatures of some fruits, vegetables, and cut flowers. U. S. Dept. Agr., Dept. Bull. 1133.

Zacharowa, T. M., 1926: Über den Einfluß niedriger Temperaturen auf die Pflanzen Jb. wiss. Bot. **65**, 61—87.

Besprechungen

Hadorn, E.: Letalfaktoren in ihrer Bedeutung für Erbpathologie und Genphysiologie der Entwicklung. G. Thieme-Verlag Stuttgart 1955. 338 S., 129 Abb. DM 39,—.

Von den verschiedenen Gebieten der Phytopathologie birgt das der „physiologischen Erkrankungen" zweifellos besondere Schwierigkeiten. Ohne Frage ist die Mehrzahl aller unter diese letzte Kategorie fallenden Symptome durch Außenfaktoren bedingt, die Art der Reaktion ist aber erbbedingt, und nicht gar so selten sind erbliche Besonderheiten eines Individuums erst die Ursache der „krankhaft" erscheinenden Reaktion des Organismus auf irgendeine Milieuwirkung, wie z. B. den pH-Wert, das Fehlen eines Spurenelementes, das Zuviel oder Zuwenig an einem Nährstoff usw. Faktoren dieser Art beeinträchtigen aber unter den gegebenen Verhältnissen die Lebensfähigkeit der mit ihnen behafteten Individuen gegenüber anderen und wirken als „bedingte" Letalfaktoren im weiteren Sinne. Eine zusammenfassende Studie über solche, die Lebensfähigkeiten eines Individuums gegenüber anderen generell oder auch nur unter bestimmten Außeneinflüssen herabsetzende Faktoren ist daher auch für den Phytopathologen von Interesse.

Das vorliegende Werk bringt in 20 Kapiteln eine zusammenfassende Darstellung über den derzeitigen Stand der Erforschung der Letalfaktoren. Da besonders augenfällig und mannigfach Tiere (Insekten, speziell Drosophila, Vögel, wie Hühner, Kleinsäuger, wie Ratten und Mäuse und Kaninchen) derartige Letalwirkungen zeigen und der Verfasser selbst Zoologe ist, werden die Einwirkungen der Letalfaktoren auf die Pflanze etwas am Rande behandelt. Trotzdem muß wegen der mannigfachen Parallelen in der Wirkung der die Lebenstüchtigkeit beeinträchtigenden oder zerstörenden Faktoren bei Tier und Pflanze das Buch auch das Interesse des Botanikers finden.

Das erste Kapitel beginnt mit der Begriffsbestimmung und der Terminologie. Der Verfasser möchte die Bezeichnung „Letalfaktor" reserviert haben für alle solche mendelnden Erbeinheiten, die den Tod eines Individuums v o r Erreichen des fortpflanzungsfähigen Stadiums zur Folge haben. Diese Faktoren können sich durch den Grad ihrer „Penetranz", d. h. dadurch unterscheiden, daß sie entweder den Tod a l l e r mit ihnen behafteten Homozygoten (bei Rezessivität) verursachen oder nur den eines Teiles. Ist die Penetranz nahezu 100%ig, so handelt es sich um einen Letalfaktor im engeren Sinne. Bei einer Penetranz von mehr als 50% spricht der Autor von einem s e m i l e t a l e n Faktor, bei noch geringerer Penetranz, bei der also mehr als 50% der betreffenden Genotypen leben bleiben, schließlich von s u b v i t a l e n Faktoren.

Die Letalfaktoren lassen sich dann nach ihrer phasenspezifischen Wirkung weiter unterscheiden. Die Wirkung kann entweder schon im frühembryonalen, spätembryonalen, oder erst in postembryonalen Stadien eintreten. Faktoren, die ein Individuum nach dem Schlüpfen aus dem Ei erst treffen, werden von anderer Seite auch Subletalfaktoren genannt, eine Bezeichnung, die der Verfasser ablehnen möchte. Die ausmerzende Wirkung auf den Genotypus haben auch die Sterilitätsfaktoren mit den Letalfaktoren gemeinsam, und doch besteht zwischen beiden im allgemeinen ein scharfer Unterschied. Sterilitätsfaktoren lassen die Individuen ja das fortpflanzungsfähige Alter erreichen und sind daher nach der vom Verfasser gegebenen Definition nicht als letal zu bezeichnen. Bei Organismen mit einer reduzierten haploiden Phase, wie bei den höheren Pflanzen, kann ein Sterilitätsfaktor, der Funktionsuntüchtigkeit der Gonen bedingt, aber den Charakter eines Letalfaktors annehmen.

Weitere Kapitel betreffen die Möglichkeit des Nachweises von Letalfaktoren, das Aufzeigen balancierter Systeme, von denen für den Botaniker Levkoje und Oenothera Paradebeispiele sind, ferner die Entstehung der Letalfaktoren durch Mutation, die Häufig-

keit ihres Auftretens im Vergleich zu Mutationen mit sichtbaren Merkmalsänderungen, die nach den vorliegenden Ergebnissen nur einen Bruchteil der beobachteten Letalmutationen ausmachen, ferner die chromosomalen Grundlagen von Letaleffekten. Aus den weiteren Kapiteln haben die Ausführungen über die Penetranz und die Expressivität der Letalfaktoren, unter denen die „bedingten Letalfaktoren" besonders behandelt werden, für den Phytopathologen ein besonderes Interesse. Bedingte Letalfaktoren sind dem Botaniker ja seit langem in Gestalt von gewissen Chlorophyllfaktoren bekannt, die bei vollem Licht die Pflanzen absterben lassen, während sie bei Aufzucht im Schatten das fortpflanzungsfähige Alter erreicht. In anderen Fällen weiß man von Weizensippen mit Chlorophylldefekten, daß die Temperatur von Bedeutung ist und darüber entscheidet, ob die Pflanze fortpflanzungsfähig wird oder nicht. Temperaturabhängigkeiten sind auch bei Drosophila und beim Seidenspinner vielfach für Letalfaktoren festgestellt worden, und der ganze Komplex der Neurospora-Ernährungsmutanten kann ebenfalls unter die Kategorie der bedingten Letalfaktoren eingereiht werden. Die Pilze vermögen ja trotz ihrer mutierten Gene sich in normaler Weise weiterzuentwickeln, wenn ihnen die Amino- usw. Verbindungen, deren Synthese durch die Mutation eines Faktors blockiert wurde, zur Verfügung gestellt werden. Biologisch ganz besonders interessant ist dann das Kapitel, das von der Zellautonomie der Letalfaktoren handelt, in dem über interessante Transplantations- und Explantationsversuche berichtet wird, aus denen hervorgeht, daß in manchen Fällen der Letaleffekt sich vermeiden läßt, wenn Gewebe des letal veranlagten Organismus in einen normalen Wirt übertragen wird. Von besonderem Interesse für den Pathologen ist dann wieder das Kapitel über Phaenokopieexperimente, in denen gezeigt wird, daß die phaenischen Wirkungen eines bestimmten letalen Genes auch durch experimentelle Eingriffe erzielt werden können, wie z. B. die Maeander-Mutation bei Drosophila durch Hungern, in anderen Versuchen die phaenische Wirkung einer Mutation durch Temperatureinflüsse usw. Diese Versuche sind insbesondere auch deswegen für den Pathologen interessant, weil, wenigstens bis zu einem gewissen Grade, auch das Umgekehrte möglich ist, nämlich durch entsprechende Außeneinflüsse einen letalen Genotypus instand zu setzen, einen dem normalen mehr oder weniger vollkommen entsprechenden Phaenotypus zu erzeugen. Das eröffnet aber Aussichten für die Heilung auch erblich bedingter Schäden.

In einem Kapitel über biochemische Phaene bei Letalfaktoren behandelt der Autor besonders interessante und aktuelle Probleme der genetischen Forschung: die Aufklärung des Weges, der vom Gen zu dem letal wirkenden Merkmalskomplex führt. Die durch übermäßigen Gehalt an Haemolymphe gekennzeichnete Letalmutation „translucida" von Drosophila entsteht nach diesen Untersuchungen nicht durch abnorme Wasseransammlung, sondern die Blutvermehrung beruht auf einer außerordentlichen Vermehrung der Aminosäuren, Peptide und Amide.

In einem der letzten Kapitel bringt der Autor Hinweise auch auf die wirtschaftlichen Schäden durch Letalfaktoren, die sogar bei Kleintieren (Hühnern) in einem einzigen Unternehmen Schäden von bereits mehr als einer halben Million Mark anrichten konnten.

Eine Terminologie schließt dann die wertvolle Darstellung unseres derzeitigen Wissens über die Letalfaktoren ab.

Kappert, Berlin-Dahlem

Soeben erschien:

Die Symptomatologie der Fusarium-Welken der Gurke

(*Cucumis sativus* L.)

und ihr Verhältnis zu den Welkekrankheiten anderer Pflanzen

Von Dr. W. Kosswig

148 Seiten mit 45 Abbildungen und 8 Tabellen.
Ganz auf Kunstdruckpapier. Kartoniert DM 14,—

Am Beispiel zweier Fusariosen der Gurke *(F. oxisporum, F. solani)* wird die Bedeutung der Symptomatologie, deren Schlüsselstellung in der Human- und Veterinärmedizin längst anerkannt ist, auch für die Phytomedizin herausgestellt. Es wird gezeigt, welche Möglichkeiten für die diagnostische und ätiologische Auswertung des Krankheitsbildes bestehen, wobei neben den äußeren Krankheitsmerkmalen auch die pathologische Anatomie entsprechende Berücksichtigung findet. Ein Vergleich dieser Fusariosen mit den Welkekrankheiten, speziell den Tracheomykosen, bei anderen Wirtspflanzen aus insgesamt 24 Familien führt zu dem Ergebnis, daß das Krankheitsbild weitgehend vom Wirt her bestimmt wird. Werden die beiden Haüptsymptome — Welken und Vergilben —, die gleichzeitig den akuten und den chronischen Verlauf der Krankheiten charakterisieren, als Grundlage für die Einteilung der behandelten Familien in eine Welkegruppe und in eine Vergilbungsgruppe verwandt, so stehen diese Familien und ihre Ordnungen in einem phylogenetischen Zusammenhang. Pathologen und Physiologen werden den Ursachen hierfür nachzugehen haben. Der Systematiker wird sich mit den Ausnahmen innerhalb dieses phylogenetischen Zusammenhanges (z. B. Cucurbitales) und den Vorschlägen zur (phylogenetischen) Eingliederung bisher umstrittener Familien und Ordnungen auseinanderzusetzen haben. Die klinische Untersuchung der Tracheomykosen und der Martiella-Fusariosen, die eine weitgehend unspezifische Reaktionsweise der Wirtspflanzen erkennen läßt, führt zu Fragen über die Ätiologie der Welkekrankheiten und den Mechanismus des pathologischen Welkens, was im besonderen Probleme der pathologischen Physiologie berührt. Bemerkungen zur Terminologie der Welkekrankheiten, die die symptomatologisch oder ätiologisch bestimmte Namensgebung diskutieren, beschließen die Arbeit.

Nematoden der Kulturpflanzen Europas

Von Dr. H. Goffart

1951. 144 Seiten mit 91 Abbildungen. In Ganzleinen DM 18,—

Das Buch stellt eine moderne und umfassende deutschsprachige Veröffentlichung auf dem Gebiet der Nematodenforschung dar. Praxis und Wissenschaft erhalten durch dieses auf Grund jahrzehntelanger Beobachtungen geschaffene Werk eine klare Übersicht über die wichtigsten Arten der Nematoden und die durch sie hervorgerufenen Schäden an den verschiedenen Kulturpflanzen. Ein ausführliches Schrifttumsverzeichnis sowie alphabetische Zusammenstellungen der berücksichtigten Pflanzen und der aufgeführten Nematoden erhöhen die Übersichtlichkeit dieses hervorragend ausgestatteten und mit zahlreichen Zeichnungen und Abbildungen versehenen Werkes.

„Goffart hat es verstanden, ein Nachschlage- und Bestimmungsbuch zu schaffen, welches alles Überflüssige vermeidet und dafür das Wesentliche klar und eindringlich für Fachkreise zusammenfaßt."
Berichte über die gesamte Biologie

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Das bedeutende Standardwerk

HANDBUCH DER LANDWIRTSCHAFT

In fünf Bänden

Unter Mitwirkung von 57 Wissenschaftlern

herausgegeben von den Professoren

Th. ROEMER †	A. SCHEIBE	J. SCHMIDT	E. WOERMANN
Halle/S.	Gießen	Hohenheim	Göttingen

I. Band: **Ackerbaulehre**
654 Seiten mit 130 Textabbildungen

II. Band: **Pflanzenbaulehre**
794 Seiten mit 184 Textabbildungen

III. Band: **Allgemeine Tierzuchtlehre**
443 Seiten mit 82 Textabbildungen

IV. Band: **Besondere Tierzuchtlehre**
548 Seiten mit 245 Textabbildungen

V. Band: **Wirtschaftslehre des Landbaues**
792 Seiten mit 34 Textabbildungen

Ladenpreis: *In Ganzleinen DM 296,—*
Bei Ratenzahlung: *In Ganzleinen DM 325,—*
Einzel-Bände des Werkes werden nicht abgegeben

Das „Handbuch der Landwirtschaft" ist das umfassendste deutsche Werk der Landwirtschaft, das in der Qualität seines Inhalts und seiner erstklassigen Ausstattung nicht seinesgleichen hat. Es gibt eine vollständige, allgemeinverständlich gehaltene, systematische Einführung zur erfolgreichen Führung eines landwirtschaftlichen Betriebes, die auf den neuesten wissenschaftlichen Forschungen und praktischen Erfahrungen des In- und Auslandes beruht.

„Die Landwirtschaft hat durch die freudige Aufnahme, die sie dem Werk bereitet hat, gezeigt, daß sie ein solches Werk zu schätzen weiß, das ihr in wissenschaftlicher Vollständigkeit, in einer der Praxis entsprechenden, leicht eingehenden Darstellung und einer vorbildlichen Ausstattung die technischen und wirtschaftlichen Grundlagen ihrer Berufsarbeit vermittelt. ... Das Werk bedeutet einen bisher nicht erreichten Gipfel der Landwirtschaftslehre."
Agrarbibliographie

„Im ganzen gesehen stellt das Werk ein von der gesamten Landwirtschaft sehnlich erwartetes Ereignis dar, das von der Praxis, Wissenschaft und nicht zuletzt von den Studierenden freudig begrüßt wird ... Es wird aber auch zum Guten des deutschen Namens seinen Weg in die Landwirtschaft der ganzen Welt finden zum Wohle des Fortschritts."
Deutsche Landwirtschaftliche Presse

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10 Hefte (4 Hefte = 1 Band).